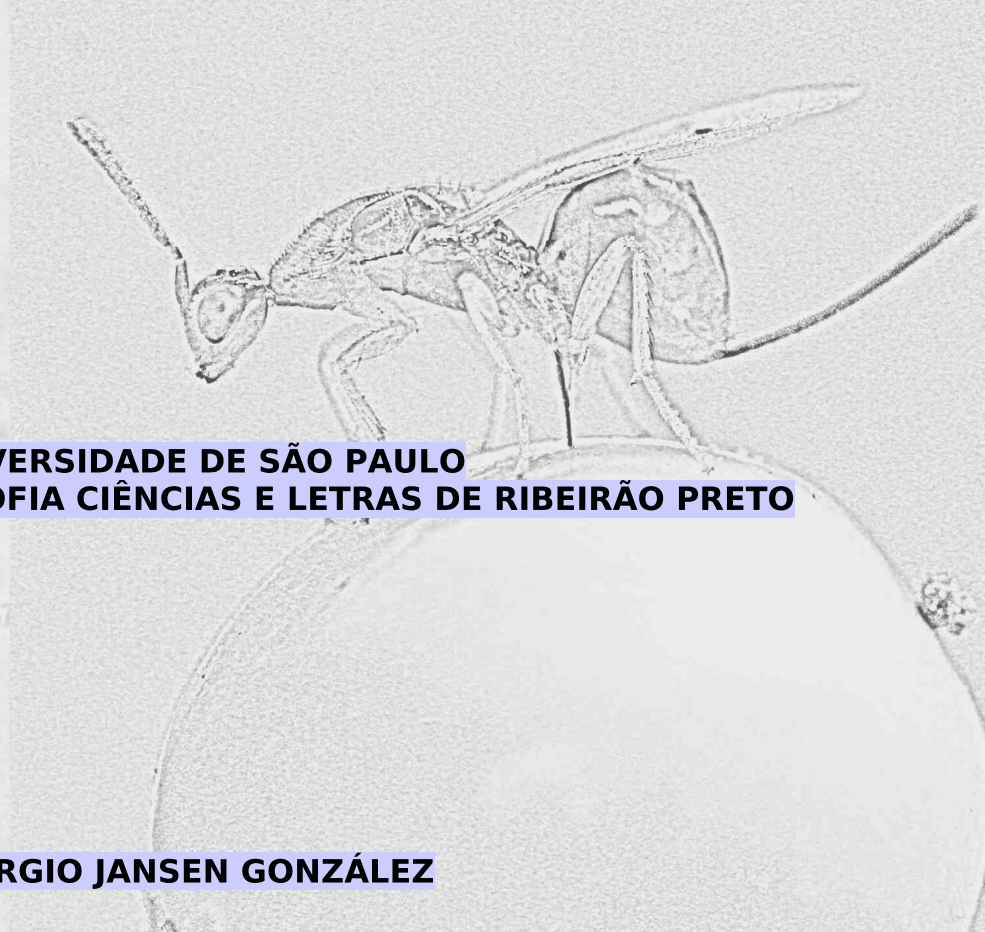





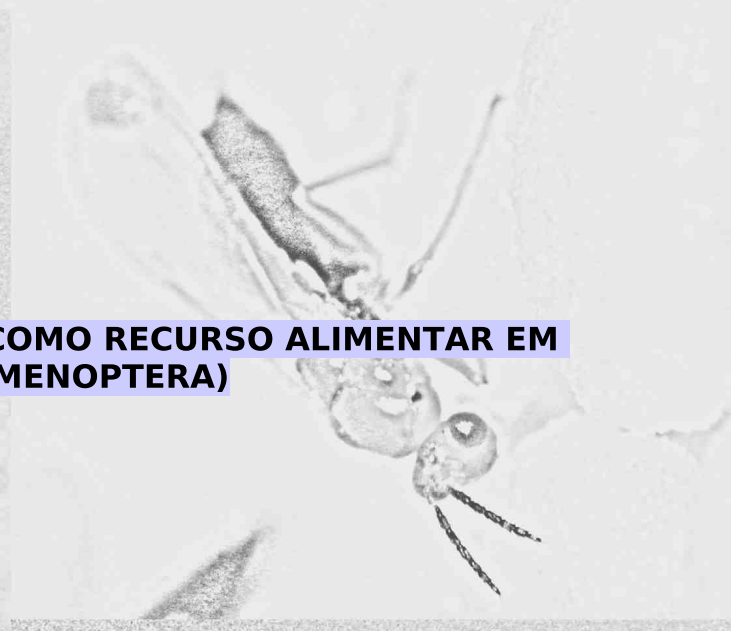
**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE FILOSOFIA CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO**




**SERGIO JANSEN GONZÁLEZ**



**ESTRATEGIAS DE USO DE SEMENTES COMO RECURSO ALIMENTAR EM  
CHALCIDOIDEA (HYMENOPTERA)**



**RIBEIRÃO PRETO/SP  
2013**



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FFCLRP - DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

**Estratégias de uso de sementes como recurso alimentar em  
Chalcidoidea (Hymenoptera)**

Sergio Jansen González

Tese apresentada à Faculdade de  
Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da  
USP, como parte das exigências para a  
obtenção do título de Doutor em Ciências,  
Área: ENTOMOLOGIA

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Augusto Santinelo  
Pereira

RIBEIRÃO PRETO - SP

2013

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE  
TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS  
DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE

Catálogo na Publicação  
Serviço de documentação  
Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto

Jansen-González, Sergio

Estratégias de uso de sementes como recurso alimentar em Chalcidoidea  
(Hymenoptera)/Sergio Jansen González; Ribeirão Preto, 2013. 79pp.

Tese (Doutorado-Programa de Pós-graduação em Entomologia, Área:  
Entomologia) Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto  
da Universidade de São Paulo.

Orientador: Rodrigo Augusto Santinelo Pereira.

1. biologia larval, 2. desenvolvimento, 3. Chalcidoidea, 4. predação de sementes.

Nome: Sergio Jansen González

Título: Estratégias de uso de sementes como recurso alimentar em Chalcidoidea (Hymenoptera)

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Ciências, Área: Entomologia.

Área: Entomologia.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura \_\_\_\_\_

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Entomologia da Universidade de São Paulo em Ribeirão Preto. A FAPESP (#09/10273-9) pela bolsa de doutorado concedida. Sem ambos os apoios não teria sido possível a realização deste trabalho.

Ao programa Jovem Pesquisador/Biota/Fapesp (#04/10299-4) e ao IDEA WILD pelos auxílios financeiros que custearam parte desse projeto.

Ao meu orientador, Rodrigo Augusto Santinelo Pereira pela sua orientação, grande aporte e apoio durante o desenvolvimento do trabalho.

À professora Simone de Pádua Teixeira pela orientação durante o estudo histológico, e ao Laboratório de Botânica da FCFRP-USP onde foram desenvolvidas as análises histológicas.

Agradeço também a Liana, Marina, Viviane, Raquel e Edmárcio do Laboratório de Botânica da FCFRP-USP pela imprescindível ajuda emprestada durante a histologia.

Meus agradecimentos aos professores Lázaro Chaves e Ronaldo Veloso da Universidade Federal de Goiás por sua acolhida e disponibilização do cultivo de *Araticum* para experimentos em campo. Agradeço ao professor Paulo Marçal Fernandes da UFG pela ajuda e disposição inesperadas. A Juliana Alencar pela grande ajuda e disposição emprestada na coleta de frutos de *Annona crassiflora*.

Um agradecimento especial a Rodrigo e Simone, pela sua acolhida, amizade e generosidade que facilitaram e alegraram minha estância no Brasil durante todos estes anos. A minha mãe Maria José e minha irmã Juanita pelo imenso apoio e carinho desde a distância. A minha esposa Laura pelo grande apoio e carinho.

Ao Brasil e à Universidade de São Paulo por me oferecer esta oportunidade que espero compensar com este meu trabalho. A Colômbia onde cresci e me formei.

A todos: Fabiana, Fernando, Luciano, Luís, Larissa, Paulão, Priscila pela amizade e apoio.

## RESUMO

JANSEN GONZÁLEZ, S. **Estratégias de uso de sementes como recurso alimentar em Chalcidoidea (Hymenoptera)** [tese]/ Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, 2013. 79f.

Várias linhagens de insetos holometábolos convergiram em relação ao uso de sementes como recurso alimentar. Em Chalcidoidea (Hymenoptera) a predação de sementes surgiu de forma independente em seis famílias. Na maioria dos casos a fêmea adulta deposita ovos em sementes imaturas ou já formadas, com uma larva sedentária se alimentando de uma única semente. Diferentemente de outras estruturas da planta a semente é geralmente bastante rica em nutrientes, mas esse ganho nutricional está condicionado por processos complexos interdependentes que envolvem tecidos com origem diversa. Estas características podem impor restrições ao desenvolvimento larval e selecionam, assim, traços nas larvas relacionados às estratégias de utilização dos recursos. O presente trabalho estudou o processo de predação de sementes envolvendo espécies de cinco linhagens de Chalcidoidea e suas plantas hospedeiras: (1) *Pegoscapus* sp. (Agaonidae: Agaoninae) – *Ficus citrifolia* (Moraceae), (2) *Idarnes* sp. (Agaonidae: Sycophaginae, grupo *flavicollis*) – *Ficus citrifolia*, (3) Eulophidae sp. – *Philodendron bipinnatifidum* (Araceae), (4) *Bephratelloides pomorum* (Eurytomidae) – *Annona crassiflora* (Annonaceae) e (5) *Megastigmus transvaalensis* (Torymidae) – *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae). Para tal, foram realizados experimentos para avaliar a relação entre a embriogênese na semente e o desenvolvimento da larva. As estratégias larvais diferiram entre as espécies que ovipositam durante a receptividade da flor pistilada (*i.e.*, Eulophidae sp., *Idarnes* sp. e *Pegoscapus* sp.), e as que ovipositam mais tardiamente na semente em formação (*i.e.*, *B. pomorum* e *M. transvaalensis*). As larvas das espécies que ovipositam precocemente se especializaram em galhar óvulos da planta ou sementes imaturas. *Pegoscapus* sp. especializou-se em galhar o endosperma da semente. Nesta espécie, a polinização realizada pela vespa fêmea durante a oviposição garante recursos à larva e diminui as probabilidades de aborto das flores na inflorescência. Por outro lado, *Idarnes* sp. e Eulophidae sp., espécies que não polinizam, são menos dependentes da polinização, capazes de induzir galhas em flores não polinizadas. As espécies que ovipositam tardiamente adotam a estratégia de interferir pouco no desenvolvimento inicial da semente, acelerando a taxa de consumo quando o endosperma e embrião atingem a maturidade. Os resultados apoiam a hipótese de que os processos embriogênicos da planta são forças seletivas importantes, que geraram soluções diversificadas e convergentes, em alguns casos, de exploração de recursos de sementes de angiospermas.

Palavras-chave: biologia larval, desenvolvimento, Chalcidoidea, predação de sementes.

## **ABSTRACT**

JANSEN GONZÁLEZ, S. **Strategies of seed utilization as alimentary resource in Chalcidoidea (Hymenoptera)** [thesis]/ Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, 2013. 79f.

Several lineages of holometabolous insects converged in the way they use seeds as an alimentary resource. In Chalcidoidea (Hymenoptera) seed predation emerged independently in six families. In most cases, the adult female oviposits on developing seeds with a sedentary larvae feeding on a single seed. The seed can be nutritionally rich when compared to other plant structures, but that nutritional growth is conditioned by complex interdependent processes involving tissues of diverse origin. This condition can impose important restrictions to the larval development and select larval traits related to the optimal exploitation of resources. This research studied the seed predation processes involving five lineages of Chalcidoidea and their corresponding host plants: (1) *Pegoscapus* sp. (Agaonidae: Agaoninae) – *Ficus citrifolia* (Moraceae), (2) *Idarnes* sp. (Agaonidae: Sycophaginae, grupo *flavicollis*) – *Ficus citrifolia*, (3) Eulophidae sp. – *Philodendron bipinnatifidum* (Araceae), (4) *Bephratelloides pomorum* (Eurytomidae) – *Annona crassiflora* (Annonaceae), and (5) *Megastigmus transvaalensis* (Torymidae) – *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae). Experiments were carried out to evaluate the relationship between the embryological processes taking place inside the seed and larval development and exploitation of resources. Larval strategies differed between those species that oviposit during flower receptivity (*i.e.*, Eulophidae sp., *Idarnes* sp., and *Pegoscapus* sp.) and those that oviposit on developing seeds (*i.e.*, *B. pomorum* and *M. transvaalensis*). Larvae from species that oviposit in early phases have specialized in gall induction on plant ovules or immature seeds. *Pegoscapus* sp. specialized in gall induction of endosperm. In this species, simultaneous pollination and oviposition by the adult female ensure resources for the larvae and diminish the abortion probabilities of the inflorescence. Females of *Idarnes* sp. and Eulophidae sp. do not pollinate, and larval traits have been selected to induce a gall on the flower and diminish abortion probability. On the other hand, in species that oviposit on developing seeds the larva developed traits that allow normal seed development in early phases and accelerate consumption when endosperm and embryo attain maturity. Results support the hypothesis that seed ontological processes have been important selective forces that have led to varied and even convergent solutions for resource exploitation of Angiosperm seeds in Chalcidoidea.

Keywords: larval biology, development, Chalcidoidea, seed predation.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	8
2 OBJETIVOS .....	11
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	12
3.1 Espécies Estudadas.....	12
3.2 Áreas de estudo .....	15
3.3 Coleta dos dados.....	15
4 RESULTADOS.....	22
4.1 <i>Pegoscapus</i> sp. – <i>Ficus citrifolia</i> .....	22
4.2 <i>Idarnes</i> sp. – <i>Ficus citrifolia</i> .....	24
4.3 Eulophidae sp. – <i>Philodendron bipinnatifidum</i> .....	38
4.4 <i>Bephratelloides pomorum</i> – <i>Annona crassiflora</i> .....	48
4.5 <i>Megastigmus transvaalensis</i> – <i>Schinus terebinthifolius</i> .....	58
5 DISCUSSÃO .....	64
5.1 <i>Pegoscapus</i> sp. – <i>Ficus citrifolia</i> .....	64
5.1 <i>Idarnes</i> sp. – <i>Ficus citrifolia</i> .....	65
5.3 Eulophidae sp. – <i>Philodendron bipinnatifidum</i> .....	66
5.4 <i>Bephratelloides pomorum</i> – <i>Annona crassiflora</i> .....	68
5.5 <i>Megastigmus transvaalensis</i> – <i>Schinus terebinthifolius</i> .....	69
5.6 Exploração de tecido reprodutivo em Angiospermas por Chalcidoidea .....	70
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	75



# 1 INTRODUÇÃO

A exploração das plantas como recurso alimentar por artrópodes herbívoros tem uma longa história no ambiente terrestre (Labandeira, 2007). No caso específico dos insetos, esta relação surgiu há aproximadamente 390 milhões de anos, consistindo em interações dinâmicas e em constante coadaptação (Labandeira, 1997).

Assim como ocorre com outras estruturas da planta, a exploração de sementes como recurso alimentar por insetos evoluiu de forma independente em várias ordens de insetos. Algumas espécies de insetos holometábolos (principalmente Diptera, Hymenoptera, Lepidoptera e Coleoptera) se especializaram na exploração de sementes em formação. Nestes grupos, a oviposição pela fêmea adulta é realizada em algum momento do desenvolvimento da semente e a larva sedentária se desenvolve e se alimenta dos tecidos em formação (Milliron, 1949; Brody, 1992; Pereira *et al.*, 1997; Pellmyr, 2003; Ostergard *et al.*, 2007; Ramos-Ordóñez *et al.*, 2008).

Fatores múltiplos, tais como ontogenia, localização dentro da planta, fenologia, defesa e história evolutiva dos grupos de plantas restringem a capacidade e a preferência de exploração de recursos por parte do inseto. Essa série de restrições certamente atuam como forças seletivas importantes que moldam as redes de interações entre insetos e plantas (e.g. generalistas vs. especialistas em relação ao hospedeiro - Price, 2002; Strauss e Zangerl, 2002; Schoonhoven, 2005).

Comparado a outras estruturas da planta, as sementes geralmente concentram altos teores de minerais, óleos e proteínas (Fenner e Thompson, 2005), o que as torna recursos alimentares de alta qualidade. No entanto, o acesso a esse recurso é condicionado aos processos ontogenéticos e embriológicos das plantas, que podem atuar como filtro aos insetos herbívoros (Fenner e Thompson, 2005; Lersten, 2004). As sementes são estruturas complexas, formadas por tecidos provenientes de organismos distintos: o embrião (novo esporófito), o endosperma (xenófito), tecidos do esporófito (envoltórios e nucelo) e do gametófito feminino (cavidade onde se encontram o embrião e o endosperma). Essas estruturas derivam da embriogênese vegetal, a qual apresenta uma sequência temporal interdependente, com origens e funções distintas dos tecidos/organismos que compõem a semente (Lersten, 2004). Nas fases finais de seu desenvolvimento, tanto o fruto quanto a semente podem desenvolver envoltórios rígidos que funcionam como barreiras físicas. Todas estas características restringem a janela temporal

adequada à oviposição pelo inseto e levam a variações nutricionais e fisiológicas dos tecidos ao longo do desenvolvimento (Fenner e Thompson, 2005), impondo restrições ao consumo pela larva.

Para a maioria dos insetos fitófagos a relação do desenvolvimento da larva e da semente é conhecida parcialmente (Milliron, 1949; Batiste, 1967; Valverde *et al.* 1998). Um dos poucos casos estudados em detalhe é a interação de vespas polinizadoras-figueiras, no qual o desenvolvimento da larva e da semente é sincronizado (Johri e Konar, 1956; Joseph, 1984; Jansen-Gonzalez *et al.*, 2012). A aplicação do estudo ontogenético nessa interação revelou adaptações refinadas da larva da vespa em relação ao desenvolvimento da semente (Jansen-Gonzalez *et al.*, 2012).

Não são conhecidos estudos comparativos abordando estratégias de exploração de recursos relacionados às sementes em insetos. Este enfoque comparativo é necessário para formular possíveis cenários evolutivos dessas interações, utilizando preferivelmente sistemas que envolvem organismos similares ou evolutivamente próximos.

Seguindo essa linha, a superfamília Chalcidoidea (Hymenoptera) é um grupo adequado para avaliar comparativamente as estratégias de utilização de sementes por insetos. Esse grupo é composto majoritariamente por parasitoides entomófagos, sendo a fitofagia restrita a sete das 20 famílias descritas. A predação de sementes, em particular, é relatada em seis famílias do grupo: Torymidae, Eurytomidae, Agaonidae, Eulophidae, Pteromalidae e Tanaostigmatidae (Gibson, 2006), ocorrendo modos variados de utilização deste recurso. O sucesso destas famílias para explorar sementes é evidenciado pela sua associação com famílias tão variadas como Anacardiaceae, Annonaceae, Aquifoliaceae, Araceae, Cupresaceae, Fabaceae, Moraceae, Myrcinaceae, Pinaceae, Rhamnaceae, Rosaceae e Symplocaceae (Gibernau *et al.* 2002; LaSalle, 2006; Hanson 2006; Gates 2006).

De modo geral, o consumo de sementes por vespas Chalcidoidea pode ser agrupado em duas estratégias principais. A maioria dos casos, envolve a oviposição pela fêmea em sementes de frutos em formação, quando polinização a fertilização já aconteceram. Neste caso, a vespa depende diretamente dos processos embriológicos para obtenção do recurso. Em todos os casos a polinização é realizada por outros agentes. Duas das espécies objeto deste trabalho, *Bephratelloides pomorum* (Eurytomidae) associado a espécies do gênero *Annona* (Annonaceae) e *Megastigmus transvaalensis* (Torymidae) associado a *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae), pertencem a este grupo. *Annona* é polinizada por besouros (Gottsberger,

1999) enquanto *S. terebinthifolius* é polinizada por uma comunidade variada de insetos (Fragoso, 2009).

Outra estratégia consiste em ovipositar em ovários de flores pistiladas antes ou durante a receptividade floral, quando polinização e fertilização estão por acontecer. As espécies objeto do estudo pertencentes a este grupo são *Pegoscapus* sp. (Agaonidae: Agaoninae), *Idarnes* sp. (Agaonidae: Sycophaginae) e Eulophidae sp. Para este grupo é mais incerto se a larva depende da polinização e subsequente fertilização para explorar os recursos.

No caso do mutualismo entre vespas polinizadoras (Agaonidae: Agaoninae) e plantas do gênero *Ficus* (Moraceae), a oviposição é realizada concomitante à polinização. Em *Pegoscapus* sp., o desenvolvimento da larva e da semente são extremamente sincronizados, com a formação da galha dependente do endosperma (Jansen-González et al. 2012). Isso sugere uma alta dependência da larva da vespa à polinização e fertilização do saco embrionário. No entanto, desconhece-se com certeza até que ponto o polinizador depende da polinização e fertilização para seu desenvolvimento.

Em *Idarnes* sp. (Agaonidae: Sycophaginae) associado a *Ficus* e Eulophidae sp. associado a *Philodendron* (Araceae) a polinização é realizada por outra espécie de inseto paralelamente à oviposição da vespa fêmea. Para *Idarnes* sp., vespas do gênero *Pegoscapus* polinizam *Ficus*, enquanto que para Eulophidae sp. são besouros do gênero *Erioscelis* os que polinizam *Philodendron* (Gottsberger e Amaral, 1984; Gottsberger e Silberbauer, 1991; Gibernau et al., 1999). Para ambos os casos são desconhecidas as adaptações para a exploração dos recursos e a influência da fertilização do saco embrionário nas estratégias de exploração.

Estas características tornam Chalcidoidea um grupo adequado para um estudo comparativo de mecanismos de predação de sementes por insetos. Na presente tese, verificamos se o ajuste fino do desenvolvimento larval em relação à embriogênese da planta, observado no sistema mutualístico *Ficus* – vespas de figo (Jansen-Gonzalez et al., 2012), ocorre em outros grupos de Chalcidoidea. Para tal, investigamos sistemas evolutivamente independentes de parasitismo de sementes em espécies pertencentes a quatro linhagens da superfamília Chalcidoidea – i.e., Agaonidae, Eulophidae, Eurytomidae e Torymidae, para testar a hipótese de que em sistemas de predação de sementes existe uma alta dependência do desenvolvimento dos tecidos/organismos seminais por parte da larva. Isso sugere a existência de estratégias ao nível larval intimamente ligadas aos processos embriogênicos da planta.

## 2 OBJETIVOS

### Geral

Investigar como vespas fitófagas utilizam sementes para o seu desenvolvimento larval, buscando entender como esse hábito alimentar convergiu em diferentes linhagens de Chalcidoidea.

### Específicos

- ✓ Avaliar a dependência de vespas mutualísticas polinizadoras (Agaonidae) e não-polinizadoras (Agaonidae: Sycophaginae e Eulophidae) à polinização e fertilização do saco embrionário;
- ✓ Avaliar quais tecidos/organismos da semente são consumidos em cada estágio larval, buscando investigar as estratégias de utilização dos recursos pelos insetos (local de deposição dos ovos, crescimento em relação ao desenvolvimento da semente e especialização por tecidos da semente) em cinco espécies de Chalcidoidea.

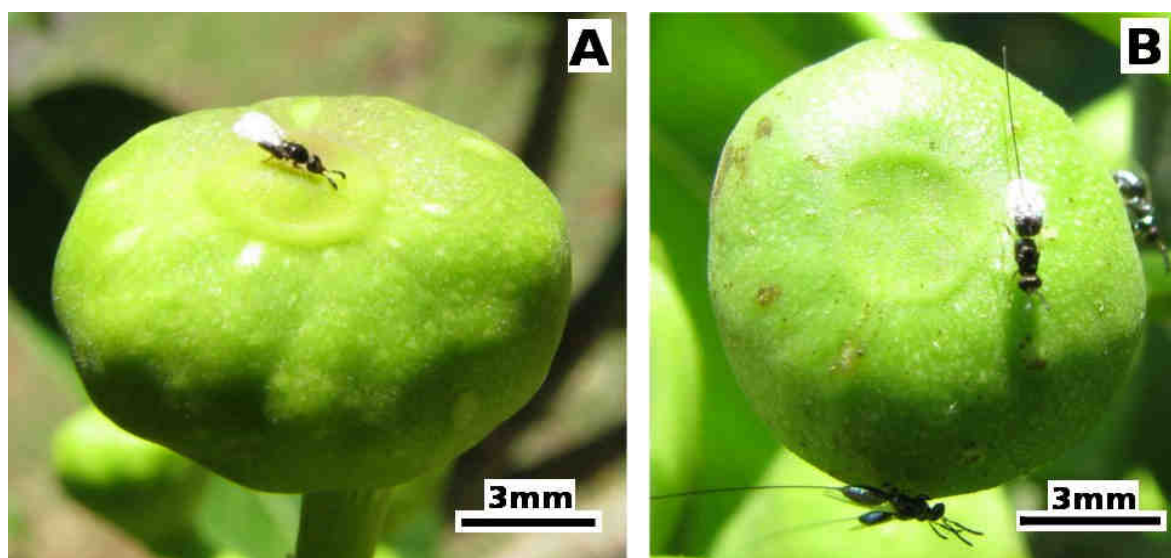
### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Espécies Estudadas

Foram estudadas cinco espécies, representando quatro famílias de Chalcidoidea. Na sequência são descritas brevemente cada espécie de inseto e sua planta hospedeira.

*Pegoscapus* sp. (Agaonidae: Agaoninae) é a espécie polinizadora de *Ficus citrifolia* (Moraceae). Vespas fêmeas dessa espécie entram nos figos receptivos, polinizam as flores e ovipositam em algumas delas (Figura 1A). Assim, uma larva se desenvolve por flor ovipositada, galhando os tecidos da semente em desenvolvimento (Jansen-Gonzalez et al., 2012).

*Idarnes* (grupo *flavicollis*, Agaonidae: Sycophaginae) é uma espécie galhadora associada aos figos de *F. citrifolia* (Figura 1B). Vespas dessa espécie ovipositam um pouco antes ou no mesmo período que as vespas polinizadoras *Pegoscapus* sp. (Elias et al. 2008). O hospedeiro, *F. citrifolia* é uma espécie pertencente ao subgênero *Urostigma*, seção *Americana*, endêmica da América (Berg e Villavicencio, 2004).



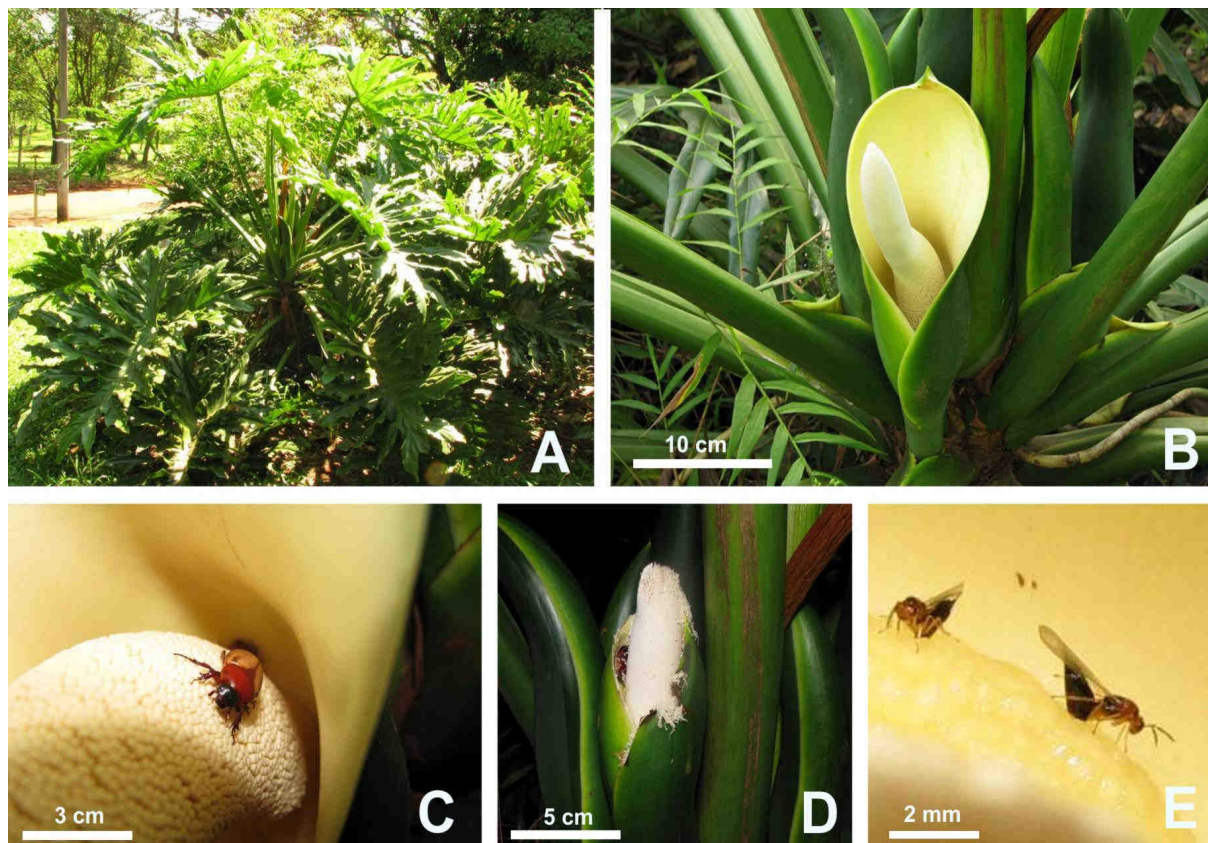
**Figura 1.** Vespas associadas a *Ficus citrifolia*. A- Fêmea de *Pegoscapus* sp. entrando ao figo. B- Fêmeas de *Idarnes* grupo *flavicollis* ovipositam desde fora do figo.

Vespas da família Eulophidae parasitam sementes de *Philodendron* spp. (Gibernau *et al.*, 2002). A chegada de vespas acontece no período receptivo das flores pistiladas. Segundo Gibernau *et al.* (2002) a espécie é predadora de sementes, comprometendo a reprodução da planta. Vespas que pertencem ao mesmo gênero foram reportadas por Ferrière (1924) para *P. bipinnatifidum* (chamado por Ferrière como *P. selloum*), uma espécie com distribuição no sudeste da América do Sul (Gottsberger e Amaral, 1984; Mayo, 1991). Dentro do campus da USP de Ribeirão Preto se encontram indivíduos de *P. bipinnatifidum* em jardins e ocorrendo naturalmente como hemiepífitas (Figura 2A). Cada indivíduo pode produzir entre 10 e 20 inflorescências (Figuras 2A-B). A polinização no gênero é realizada por besouros (Gottsberger e Amaral, 1984; Gottsberger e Silberbauer, 1991; Gibernau *et al.*, 1999) (Figuras 2 C-D).

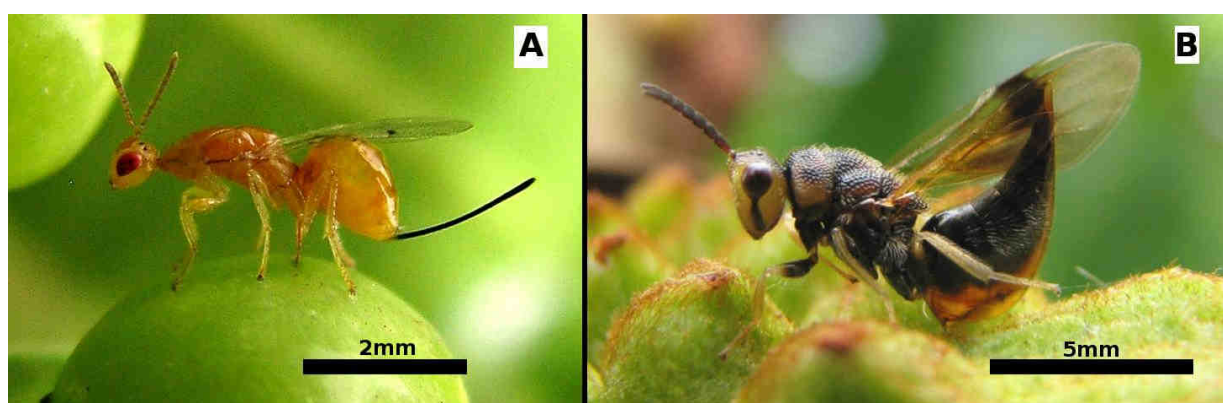
Embora as vespas galhadoras de *P. solimoense* foram determinadas como pertencentes ao gênero *Exurus*, o posicionamento é equivocado e um novo gênero esta sendo descrito (Gates *et al.* em prep.). No presente trabalho a espécie associada a *P. bipinnatifidum* (Figura 2E) será chamada de Eulophidae sp.

*Megastigmus transvaalensis* (Torymidae) é uma espécie originária da África, que foi introduzida acidentalmente na América (Scheffer e Grissell, 2003), e consome sementes da espécie nativa do Brasil *Schinus terebinthifolius* (Anacardeaceae – Perioto, 1997; Cuda *et al.* 2002). Esta vespa oviposita através da parede de frutos em formação (Figura 3A). Plantas da espécie *S. terebinthifolius* são árvores de pequeno porte, dióicas, com polinização entomofílica, nativas do sudeste da América do Sul (Lorenzi, 2002). A floração de *S. terebinthifolius* se estende ao longo do ano, com o período de floração mais intenso entre os meses de fevereiro e abril (Cesario e Gaglianone 2008; Fragoso, 2009).

Várias espécies de vespas do gênero *Bephratelloides* (Eurytomidae) são relatadas como predadoras de sementes de espécies de Annonaceae (Grissell e Foster, 1996). *Bephratelloides pomorum* oviposita no começo do desenvolvimento da semente de *Annona crassiflora* (Braga-Filho *et al.*, 2007) (Figura 3B). Esta espécie não é específica, pois ataca sementes de *A. muricata* e *A. squamosa* também. O ciclo larval desta espécie da vespa dura de 36 a 82 dias quando infesta *Annona squamosa* (Pereira *et al.*, 1997). Em plantas do gênero *Annona* a polinização é realizada por besouros em sua maioria (Gottsberger, 1999).



**Figura 2.** Aspectos de *Philodendron bipinnatifidum*. A- Indivíduo no campus da USP- Ribeirão Preto. B- Detalhe inflorescência aberta. C- Besouro polinizador visitando inflorescência. D- inflorescência em fase de antese. E- Vespa Eulophidae sp. ovipositando em flores pistiladas.



**Figura 3.** A- Fêmea de *Megastigmus transvaalensis* ovipositando em fruto de *Schinus terebinthifolius*. B- Fêmea de *Bephratelloides pomorum* ovipositando em fruto de *Annona crassiflora*.

### 3.2 Áreas de estudo

Os estudos das espécies *Pegoscapus* sp., *Idarnes* sp., *Megastigmus transvaalensis* e Eulophidae sp. foram desenvolvidos no campus da USP em Ribeirão Preto (21°10'S; 47°48'W).

O experimento com *Bephratelloides pomorum* foi desenvolvido em Goiânia, em uma coleção *ex-situ* de plantas frutíferas do Cerrado da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás, campus Samambaia.

### 3.3 Coleta dos dados

#### 3.3.1 Dependência da polinização

Para avaliar a dependência da fertilização das flores por parte de vespas dos sistemas *Pegoscapus* sp. - *Ficus citrifolia* e Eulophidae sp. - *Philodendron bipinnatifidum*, foram realizados experimentos de oviposição e polinização controlados. Para isto, inflorescências jovens foram isoladas com sacos de tecido “voil” (malha com diâmetro < 0,5 mm). Quando as flores atingiram a fase receptiva, quatro tratamentos foram instalados: (1) polinização com vespa, (2) polinização sem vespa (controle positivo), (3) vespa sem polinização e (4) sem polinização sem vespa (controle negativo). O tratamento controle positivo serviu para avaliar o desenvolvimento dos tecidos/organismos sem a influência das vespas. O tratamento controle negativo avaliou a capacidade de retenção das flores na ausência de polinização. A polinização manual foi feita utilizando pólen de inflorescências coletadas de outras plantas, para evitar possíveis efeitos de endogamia e/ou incompatibilidade genética. As inflorescências tratadas foram monitoradas a cada 2-5 dias e foram quantificadas as inflorescências abortadas.

Os experimentos de dependência da polinização não foram realizados nos sistemas *Idarnes* – *Ficus*, *Bephratelloides* – *Annona* e *Megastigmus* – *Schinus*. A capacidade das vespas de *Idarnes* (grupo *flavicollis*) de se desenvolvem em ovários não fertilizados foi demonstrada previamente (Elias, 2008). *Bephratelloides pomorum* e *M. transvaalensis*, por outro lado, são dependentes da polinização, uma vez que depositam ovos em frutos já formados.



Na sequência são descritos detalhes metodológicos dos sistemas manipulados.

#### *Pegoscapus* sp.- *Ficus citrifolia*

Nesse sistema, o desenvolvimento da larva em ovários polinizados e o da semente na ausência de larva foram previamente estudados (Jansen-Gonzalez, 2009). Há relatos de que vespas polinizadoras de *Ficus* são capazes de se desenvolver em ovários não polinizados (Galil e Eisikowitch, 1971, Jousselin et al., 2003). Foi avaliado o desempenho de *Pegoscapus* sp. sob três cenários: “vespas sem pólen”, “vespas com pólen” e “sem vespa”.

Os experimentos foram realizados em três coortes de vespas, cada uma em um indivíduo de *F. citrifolia* diferente, entre abril e novembro de 2011. Em cada árvore, cerca de 60 figos em fase inicial de desenvolvimento (antes da fase receptiva) foram ensacados, evitando o acesso das vespas polinizadoras. Uma vez na fase receptiva, os figos foram descobertos e uma vespa introduzida por figo, colocando-a gentilmente perto do ostíolo do figo. Após a introdução, os ramos foram novamente ensacados para evitar o acesso de vespas inquilinas e parasitóides. No tratamento “sem vespa” os figos eram descobertos e cobertos de novo sem introdução de vespa. Cada tratamento contou com 20 figos como replica, com todos os tratamentos realizados um mesmo dia. As vespas utilizadas nas introduções foram obtidas de figos em fase de emergência das vespas provenientes de outras árvores.

Como a polinização das flores de *Ficus* é mediada pela vespa, para o tratamento “vespa sem pólen” foi necessário obter insetos livres de pólen. Para tal, figos foram coletados um pouco antes da emergência das vespas. Em laboratório, os figos foram abertos e as galhas contendo fêmeas fertilizadas (com presença de pequeno orifício na galha indicando que a fêmea já fora acasalada) foram retiradas e isoladas em saco de tecido “voil” até a emergência das vespas. Esta técnica evita o contato das vespas com as anteras e a consequente coleta de pólen pelas vespas. Para se certificar da ausência de pólen nas vespas, uma subamostra dos indivíduos emergidos foi obtida e seus bolsos de pólen foram examinados em estereoscópio sob aumento 40x.

A partir da data de introdução as árvores foram visitadas a cada 2-3 dias para determinar a quantidade de figos abortados por tratamento ao longo do tempo. Os figos que completaram seu desenvolvimento após a aplicação dos tratamentos foram coletados antes da fase de emergência das vespas e levados para o laboratório. Estes foram colocados individualmente

dentro de potes com tampa de tecido “voil” para emergência das vespas. Uma vez emergidas as vespas, de cada figo foram quantificados: (1) número total de vespas macho e fêmea, (2) número total de sementes produzidas e (3) número total de bexigas (galhas vazias onde a larva morreu antes de completar o desenvolvimento).

#### Eulophidae sp. - *Philodendron bipinnatifidum*

Os experimentos foram realizados em nove indivíduos de *P. bipinnatifidum*. No total, 91 inflorescências foram utilizadas para aplicar os seguintes tratamentos: com vespas/com pólen, com vespas/sem pólen, sem vespas/com pólen, sem vespas /sem pólen.

As inflorescências de *P. bipinnatifidum* foram ensacadas antes da antese. Quando as flores pistiladas estavam receptivas, os tratamentos foram aplicados e as inflorescências novamente ensacadas para evitar o acesso de insetos. A polinização foi realizada com pincel impregnado de pólen de outros indivíduos de *P. bipinnatifidum*. Para os tratamentos que envolviam oviposição das vespas, 30 vespas fêmeas foram introduzidas por inflorescência na fase de antese.

A partir do dia de introdução de vespas/polinização, as inflorescências eram visitadas em intervalos de 4-5 dias para quantificar a taxa de aborto por tratamento e indivíduo. As inflorescências/infrutescências que eram retidas foram coletados antes da fase de emergência das vespas e levadas para o laboratório. Cada inflorescência foi colocada dentro de um saco “voil” para emergência das vespas e depois dissecadas para quantificar: (1) número total de frutos/flores, (2) número total de flores com galha (3) número total de frutos com sementes, (4) número total de frutos com galhas e sementes.

#### 3.3.2 Desenvolvimento larval

O desenvolvimento larval foi estudado em flores/frutos ovipositados de forma controlada.

Para isto, flores/inflorescências jovens foram ensacadas previamente e polinizadas manualmente na fase de antese, conforme metodologia descrita anteriormente. Na sequência, essas flores foram oferecidas às vespas para oviposição durante 24-48 horas. A fase de desenvolvimento na qual ocorre a oviposição foi determinada por dados da literatura e por

resultados de experimentos prévios. Os tamanhos amostrais utilizados e os intervalos de coleta em cada sistema estudado são apresentados na tabela 1.

A partir do dia de introdução das vespas, uma fracção de frutos/flores coletados foram fixados em FAA 50 e estocados em álcool 70%. Parte do material foi dissecado sob estereoscópio. Os estádios imaturos dos insetos foram extraídos e fotografados em estereoscópio Leica MZ16 acoplado a uma câmara digital. O comprimento do corpo foi mensurado usando o programa IM50 Leica™.

Na sequência são descritos detalhes metodológicos dos sistemas manipulados.

#### *Pegoscapus – Ficus citrifolia*

As informações sobre o desenvolvimento larval de *Pegoscapus* sp. em *F. citrifolia* foram obtidas de Jansen-González (2009) e Jansen-González et al. (2012).

#### *Idarnes – Ficus citrifolia*

Para esse sistema o desenvolvimento larval foi estudado em flores polinizadas e não polinizadas. Para o tratamento com polinização, obteve-se pólen de figos coletados de outros indivíduos de *F. citrifolia* com anteras maduras e levados ao laboratório. As anteras foram retiradas e colocadas em solução de água - sacarose 2% para liberação do pólen. Ramos contendo figos jovens foram ensacados com tecido “voil” para evitar o acesso de insetos. Quando os figos atingiram a fase receptiva, a polinização manual foi realizada injetando-se com uma seringa a solução com pólen, através do ostíolo do figo. Na sequência, foram introduzidas fêmeas de *Idarnes* nos ramos ensacados. Para o tratamento sem polinização as vespas foram introduzidas sem polinizar previamente os figos. Os figos manipulados foram mantidos ensacados durante todo o período do experimento, para evitar o acesso de outros insetos. A partir da data de introdução das vespas, 4-5 figos foram amostrados em intervalos de 2 dias para dissecação e observação do desenvolvimento larval. Os experimentos foram desenvolvidos durante setembro de 2010 e entre setembro e outubro de 2011.

Alguns figos abortados e não abortados do tratamento “sem pólen” foram levados ao laboratório, fixados em FAA e estocados em álcool para depois quantificar as galhas de *Idarnes* sp., uma vez que os ovários galhados são reconhecíveis devido a que incham poucos dias após

a oviposição.

#### *Bephratelloides pomorum* – *Annona crassiflora*

Botões florais de nove indivíduos de *A. crassiflora* foram ensacados e, na fase de antese, polinizados manualmente com um pincel e novamente ensacados dentro de um intervalo de 48h para garantir homogeneidade de desenvolvimento entre frutos. Após quinze dias os frutos tratados de todas as árvores foram descobertos, permitindo o acesso natural de fêmeas de *B. pomorum*. Nesse experimento não foi possível manipular a introdução de vespas nos frutos ensacados, devido à dificuldade em coletar os insetos na natureza. Os frutos descobertos foram monitorados e a oviposição de vespas acompanhada ao longo de 48h, para depois ensacar os frutos e evitar acesso de outros insetos. Um dia depois da oviposição das vespas foi realizada uma primeira coleta de três frutos, e a partir desse dia foram realizadas coletas a cada sete dias de 2-3 frutos. A polinização foi realizada o 27 de outubro de 2012 e a coleta desenvolvida entre novembro de 2011 e janeiro de 2012.

#### *Megastigmus transvaalensis* – *Schinus terebinthifolius*

Ramos contendo aproximadamente 100 botões florais foram ensacados. Na fase de antese, aproximadamente 50 flores por ramo foram polinizadas manualmente e as demais removidas para não interferirem no experimento. O desbaste de flores não polinizadas, comumente usado em experimentos de biologia floral, não interferiu no desenvolvimento dos frutos nesse experimento. Após 15 dias, vespas fêmeas foram introduzidas por ramo, para os tratamentos de oviposição. As vespas foram mantidas durante 24-48 horas e depois removidas. A partir dessa data 10 frutos foram coletados a cada 2-4 dias. Os experimentos foram desenvolvidos entre fevereiro e abril de 2012 em coortes de vespas de quatro indivíduos de *S. terebinthifolius*.

### 3.3.3 Desenvolvimento das galhas/sementes

Parte do material coletado na amostragem sequencial descrita no item anterior foi utilizado para o estudo do desenvolvimento das sementes/galhas. O número de sementes/galhas

Tabela 1. Tamanhos amostrais e intervalos de coleta para o estudo do desenvolvimento larval de cinco espécies de vespas da subfamília Chalcidoidea.

Vespa	Nº de plantas estudadas	Intervalo de coleta (dias)	Nº flores ou inflorescência/planta	Nº de vespas por flor ou inflorescência
<i>Pegoscapus</i>	3	2	4-5 inflor.	4
<i>Idarnes</i>	3	2	4-5 inflor.	4
Eulophidae	4	5	1 inflor.	4
<i>Bephratelloides</i>	9	7	1-2 flores	Não controlado
<i>Megastigmus</i>	4	3-5	100 flores	10

analisadas e o intervalo de tempo entre as amostragens variaram de acordo com a espécie estudada. Para *Pegoscapus* sp. e *Idarnes* sp. 15 flores foram avaliadas em intervalos de quatro dias. Para Eulophidae sp. cinco frutos em intervalos de cinco dias. Para *Bephratelloides* sp. três a cinco sementes galhadas foram avaliadas em intervalos de sete dias. Para *M. transvaalensis* cinco frutos foram avaliados em intervalos de cinco dias.

Os materiais foram tratados segundo técnicas usuais de infiltração em resina plástica Leica Historesin® (Gerrits, 1991) e seccionados em série, longitudinalmente, com 5 a 8 µm de espessura, em micrótomo rotativo Leica RM 2245. Os cortes obtidos foram corados com azul de toluidina 0,05%, pH 4,4 (O'Brien *et al.*, 1964), observados e ilustrados em um microscópio Leica DM 4500, acoplado à câmera digital Leica DM 4500.

### 3.3.4 Forma de análise dos dados

#### *3.3.4.1 Desenvolvimento larval e das galhas/sementes*

A partir das medições do comprimento do corpo, foram construídas (1) curvas de crescimento das larvas (idade vs. tamanho), (2) diagramas de distribuição de frequências para delimitação dos estádios de desenvolvimento (Daly, 1985), e (3) curvas de aceleração do crescimento ( $\text{tamanho}_t - \text{tamanho}_{t-1}$ ) larval. Os estádios larvais foram determinados pelas

mudanças abruptas no tamanho corporal, evidenciadas pelos diagramas e por mudanças morfológicas das larvas.

O desenvolvimento galhas e sementes foi analisado de forma descritiva, associando o surgimento dos tecidos/organismos vegetais às fases de desenvolvimento larval.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 *Pegoscapus* sp.- *Ficus citrifolia*

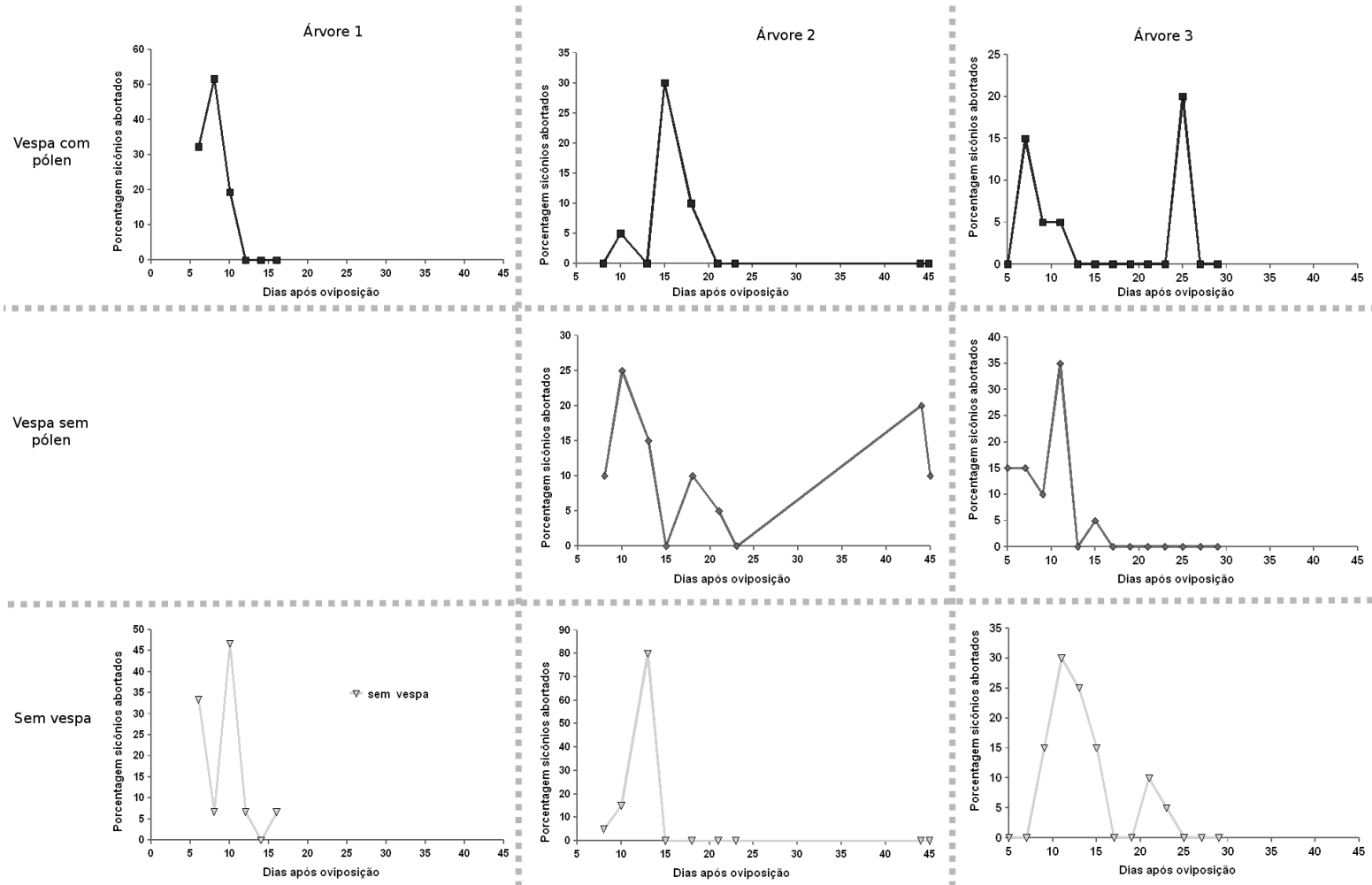
Os figos retidos no tratamento “vespa sem pólen” não produziram sementes. Quando comparados ao tratamento “vespas com pólen”, produziram um número menor de vespas e um número maior de bexigas (Tabela 2).

**Tabela 2.** Efeito da polinização sobre o desenvolvimento da prole de *Pegoscapus* sp. em três árvores de *F. citrifolia*. N = número de figos manipulados; n = número de figos em que a prole completou o desenvolvimento. Valores representam a média  $\pm$  desvio padrão das variáveis quantificadas.

Árvore	N	Aborto (%)	n	Sementes	Bexigas	Vespas	Razão sexual
a) Figos polinizados							
1	23	43	14	132,8 $\pm$ 30,1	15,8 $\pm$ 5,0	214,6 $\pm$ 42,4	0,09 $\pm$ 0,03
2	19	45	10	136,1 $\pm$ 21,8	55,9 $\pm$ 19,0	185,4 $\pm$ 26,4	0,07 $\pm$ 0,03
3	20	0	20	166,0 $\pm$ 50,2	16,3 $\pm$ 9,3	132,7 $\pm$ 33,8	0,08 $\pm$ 0,03
(b) Figos não polinizados							
1	19	100	0	-	-	-	-
2	19	84	3	0,0	199,0 $\pm$ 5,6	72,33 $\pm$ 20,6	0,06 $\pm$ 0,05
3	19	0	19	0,0	104,3 $\pm$ 37,5	93,2 $\pm$ 46,7	0,08 $\pm$ 0,04
(c) Controle (sem vespa)							
1	20	100	0	-	-	-	-
2	20	100	0	-	-	-	-
3	20	100	0	-	-	-	-

Todos os figos do tratamento “sem vespa” abortaram, apresentando um pico de aborto entre o 10° e 15° dia após o início do experimento. No tratamento “vespa sem pólen” a maior parte dos figos abortaram, com os picos de aborto coincidindo com aquele do tratamento “sem vespa”. No tratamento “vespa com pólen” pouco menos da metade dos figos foram abortados, em intervalos de tempo variáveis (Figura 4).

No geral, o desempenho das vespas foi afetado negativamente pela ausência de polinização. Mesmo nos figos que se desenvolveram no tratamento “vespa sem pólen” (i.e. árvores 2 e 3), o número de vespas que atingiram a fase adulta foi menor e o número de bexigas foi maior, indicando maior mortalidade larval.



**Figura 4.** Taxas de aborto de sicônios de *F. citrifolia* ao longo do tempo nos três tratamentos experimentais. Ver Materiais e Métodos para detalhes do experimento

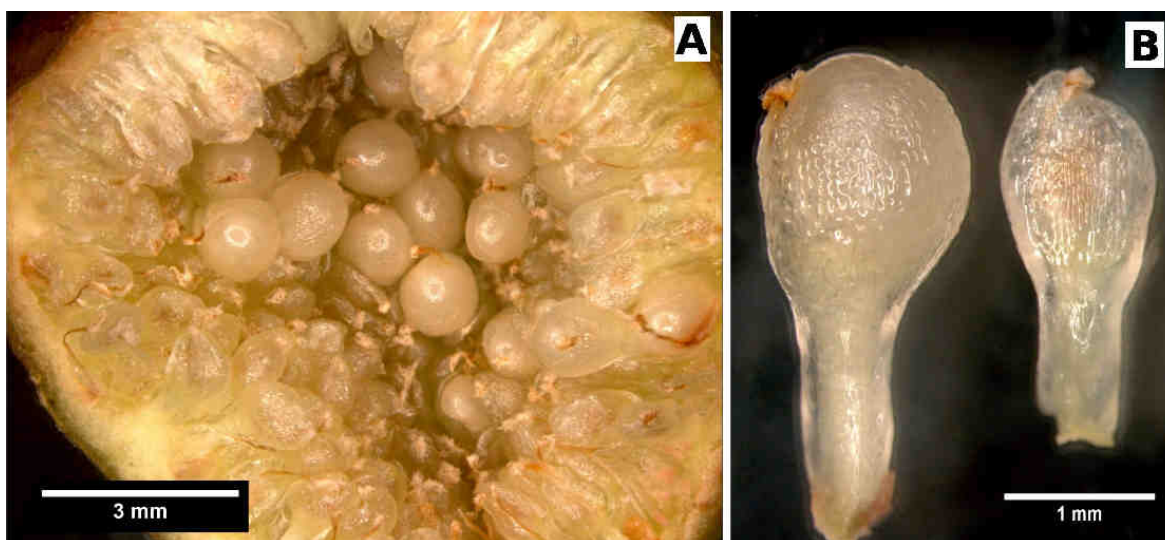


#### 4.2 *Idarnes* sp. – *Ficus citrifolia*

As larvas de *Idarnes* sp. se desenvolveram normalmente em sicônios não polinizadas. Em quatro das seis repetições do tratamento vespas sem polinização houve uma alta taxa de aborto de figos (Tabela 3). Aparentemente os figos com menor número de galhas (Figura 5) apresentam maiores chances de serem abortados (Tabela 3).

**Tabela 3.** Número de galhas em experimentos de desenvolvimento de *Idarnes* sp. em sicônios não polinizados de *Ficus citrifolia*. NQ = não quantificado, N = n° de figos. Valores representam a média ± desvio padrão das variáveis quantificadas.

	Árvore 1	Árvore 2	Árvore 3	Árvore 4	Árvore 5	Árvore 6
% Sicônios abortados	93% (N=27)	87% (N=56)	100% (N=44)	100% (N=190)	0% (N=270)	35% (N=292)
galhas/sicônio abortado	14,2 ± 12,9 (N=25)	NQ	10,8 ± 11,1 (N=41)	27,33 ± 28,2 (N=176)	NQ	37,1 ± 30,2 (N=138)
galhas/sicônio não abortado	63,5 ± 13,4 (N=2)	116,7 ± 31,5 (N=7)	NQ	NQ	156,9 ± 50,5 (N=25)	120,3 ± 19,5 (N=9)



**Figura 5.** Galhas de *Idarnes* sp. cinco dias após oviposição. A. Galhas em um figo abortado; B. comparação flor galhada (esquerda) e flor não galhada (direita).

**Tabela 4:** Intervalos de tempo e tamanho corporal em cada estágio de *Idarnes* sp., em duas árvores de *Ficus citrifolia*..

	<b>Estádio</b>	<b>Ocorrência (dias)</b>	<b>N</b>	<b>Comprimento (mm) ± DP</b>	<b>Largura (mm) ± DP</b>
<b>Árvore 5</b>	ovo	2 a 4	40	0,110 ± 0,011	0,060 ± 0,007
	L1	6 a 10	60	0,206 ± 0,059	0,113 ± 0,032
	L2 <sup>°</sup>	12 a 16	60	0,745 ± 0,207	0,232 ± 0,062
	L3* <sup>°</sup>	18 a 24	80	1,507 ± 0,291	0,423 ± 0,095
<b>Árvore 6</b>	ovo	2 a 4	40	0,108 ± 0,007	0,060 ± 0,007
	L1	6 a 12	80	0,258 ± 0,094	0,117 ± 0,031
	L2 <sup>°</sup>	14 a 16	40	0,689 ± 0,181	0,210 ± 0,052
	L3* <sup>°</sup>	18 a 24	80	1,499 ± 0,271	0,415 ± 0,078

<sup>°</sup> presença de cavidade bucal; \* presença de aparelho bucal quitinizado; N = número de larvas mensuradas; DP = desvio padrão.

A seguir é apresentado a descrição dos estádios larvas para os dois tratamentos (polinizado e não polinizado). Na tabela 4 são apresentados os dados morfométricos dos estádios imaturos de *Idarnes* sp. para as duas árvores em que ocorreram menores taxas de aborto de figos.

#### *Ovo*

O ovo foi encontrado nos dias 2 e 4 após a oviposição. O ovo de *Idarnes* sp. é de formato oval, ligeiramente plano dorso-ventralmente, com um pequeno pedúnculo (comprimento ± desvio padrão: 0,110 ± 0,011, largura 0,060 ± 0,007 mm, N = 20 - Figura 6A). O pedúnculo é pouco conspícuo, curto, com mais ou menos um quarto do comprimento do ovo. O ovo foi encontrado sempre entre o nucelo e o tegumento interno do ovário floral, na região da entrada do canal do estilete (Figuras 7A-B, 8A-D). O ovo fica ancorado pelo pedúnculo do lado interno do tegumento interno. Tanto nos tratamentos com e sem polinização foi observado um incremento de volume nas células do nucelo, principalmente aquelas perto do ovo e na região oposta a ele, dentro do ovário da planta (Figura 8B, D). Óvulos destes dois tratamentos não apresentaram diferenças perceptíveis. Quando comparado a sementes em desenvolvimento

(Figuras 8C-D) nota-se claramente diferenças morfológicas nos tecidos do ovário.

### *Larvas*

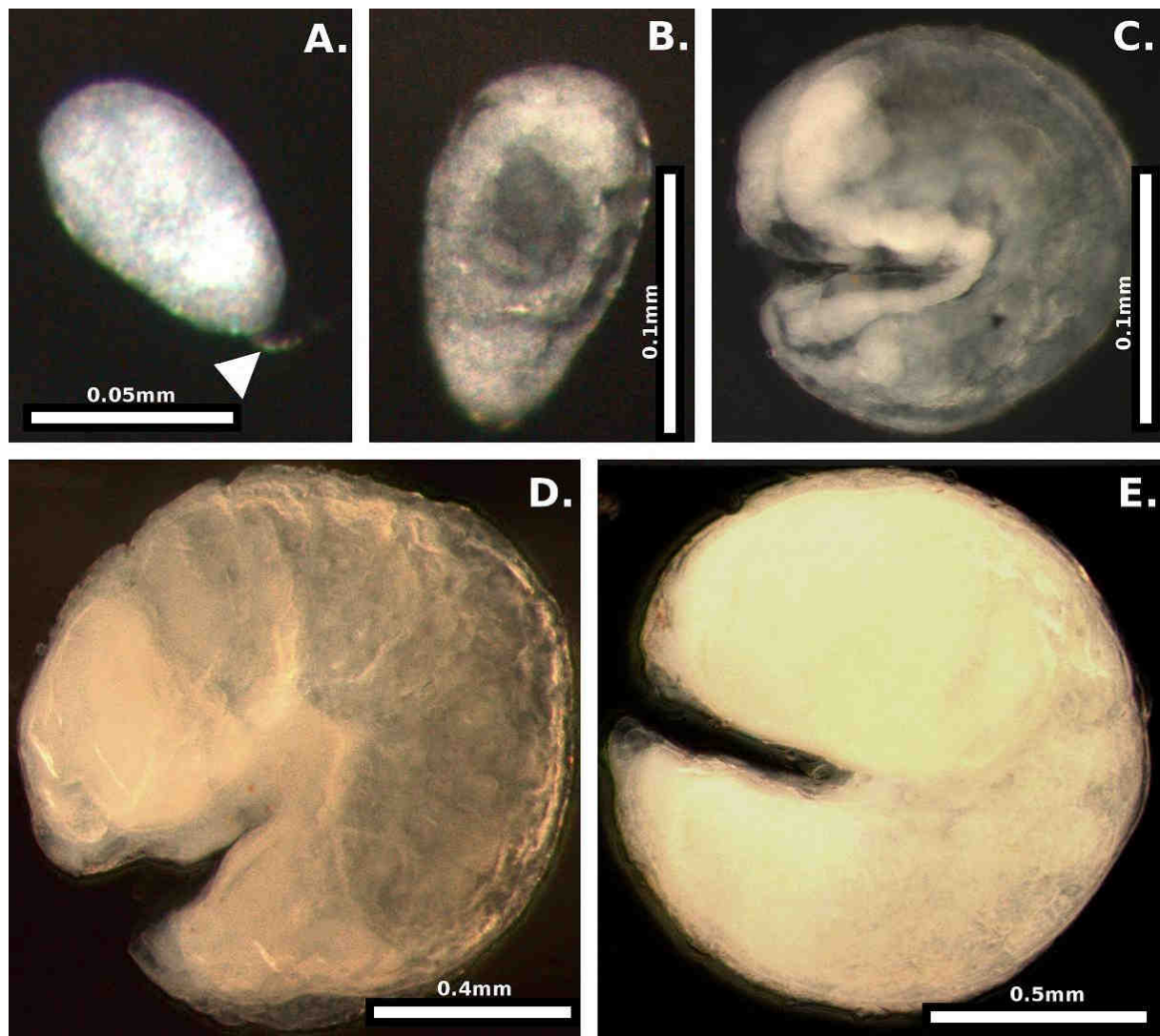
De acordo com as curvas de crescimento, diferenças e frequência de tamanho (Figuras 9-11), *Idarnes* sp. apresenta três estádios larvais identificados por mudanças no tamanho do corpo. O primeiro estágio larval ocorreu entre os dias 6-10, o segundo entre os dias 12-16 e o terceiro entre os dias 18-24.

Larvas do primeiro ao segundo estágio são do tipo sacciforme, não havendo segmentação evidente do corpo e pouca diferenciação dos órgãos internos. Larvas do terceiro estágio são hymenopteriformes. A forma do corpo é semelhante a uma vírgula e a segmentação também é pouco evidente.

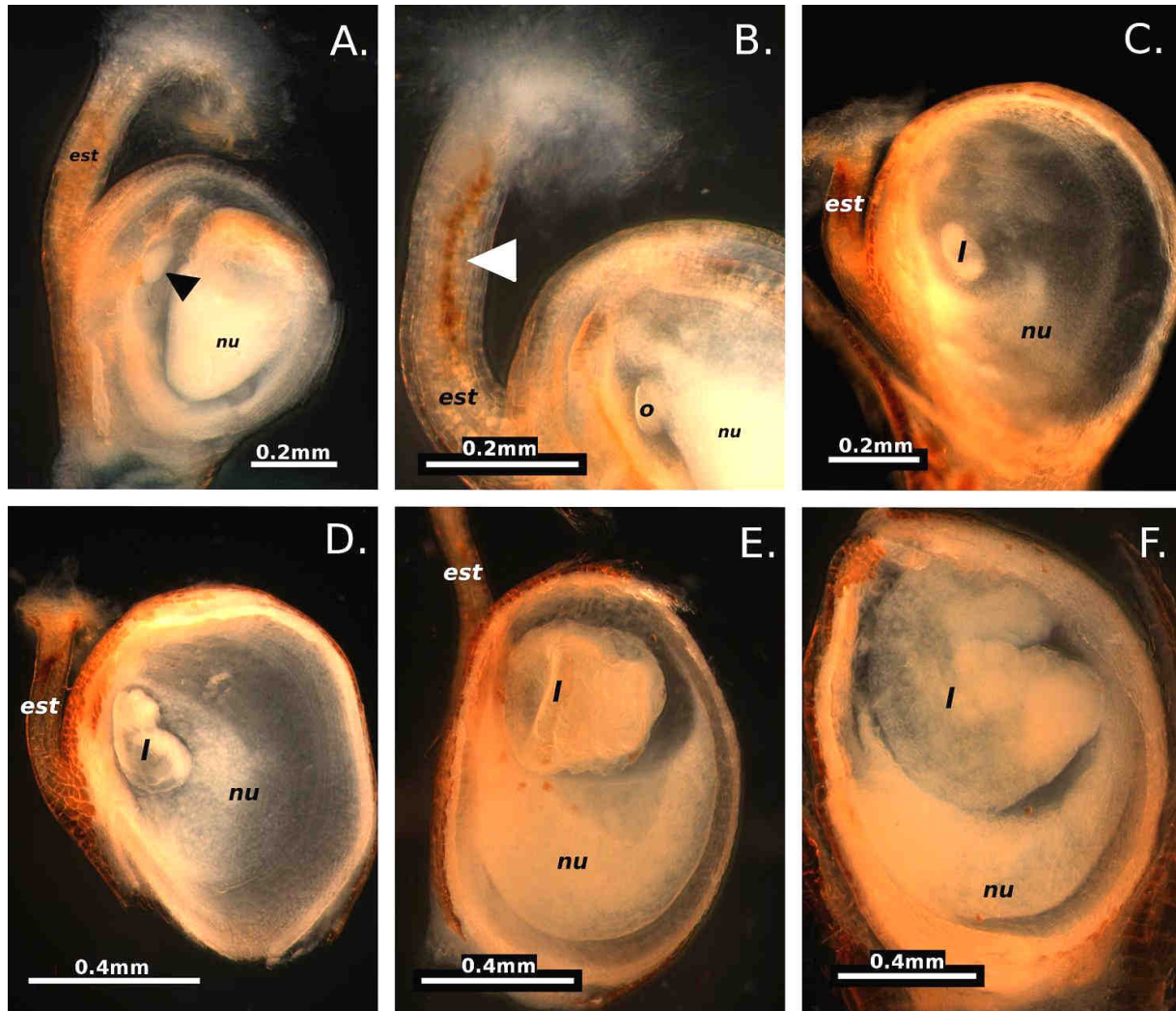
### *Primeiro estágio larval*

O primeiro estágio larval foi encontrado no 6º dia após oviposição (comprimento:  $0,206 \pm 0,059$ , largura:  $0,113 \pm 0,032$  mm - Figura 6B).

Este estágio larval apresentou a menor taxa de crescimento, encontrando-se na parte basal da curva de crescimento (Figuras 9-10). A localização deste estágio é sempre entre o espaço formado entre o nucelo e o tegumento interno. A larva se encontra dentro do nucelo com células claramente hipertrofiadas quando comparando a sementes em desenvolvimento (Figuras 7C e 12, comparar 12A-D e 12E-F). As células do nucelo próximas à larva continuaram o crescimento observado na fase de ovo e muitas delas encontram-se vacuolizadas (Figura 12B). Nos cortes histológicos de flores do tratamento “polinizado” não foi possível encontrar embrião vegetal e endosperma bem definidos junto com a larva. A figura 12D mostra um suspensor de embrião vegetal, indicando que a fertilização ocorreu, no entanto nos cortes não foi achado embrião.



**Figura 6.** Estádios imaturos de *Idarnes* sp. A. ovo, a seta aponta um pequeno remanescente de pedúnculo; B. 1º instar larval; C. 2º instar larval; D.-E. 3º instar larval.



**Figura 7.** Localização dos principais estádios imaturos de *Idarnes* sp. nos ovários de flores pistiladas de *Ficus citrifolia*. As figuras mostram um corte transversal do ovário. A- Ovo (seta). B- detalhe ovo, a seta mostra cicatriz deixada pelo ovipositor. C- primeiro estágio larval. D- segundo estágio larval. E- terceiro estágio larval. F- Terceiro estágio larval com tecido consumido. *est.*= Estilete. *l*= Larva. *nu*= nucelo. *o* = ovo.

### *Segundo estágio larval*

O segundo estágio larval iniciou a partir do 12º dia após oviposição (comprimento:  $0,745 \pm 0,207$ ; largura:  $0,232 \pm 0,062$  mm - Figura 6C). O crescimento é acelerado, encontrando-se na parte intermediária da curva (Figura 10). A posição da larva dentro do ovário é a mesma do estágio anterior (Figura 7D).

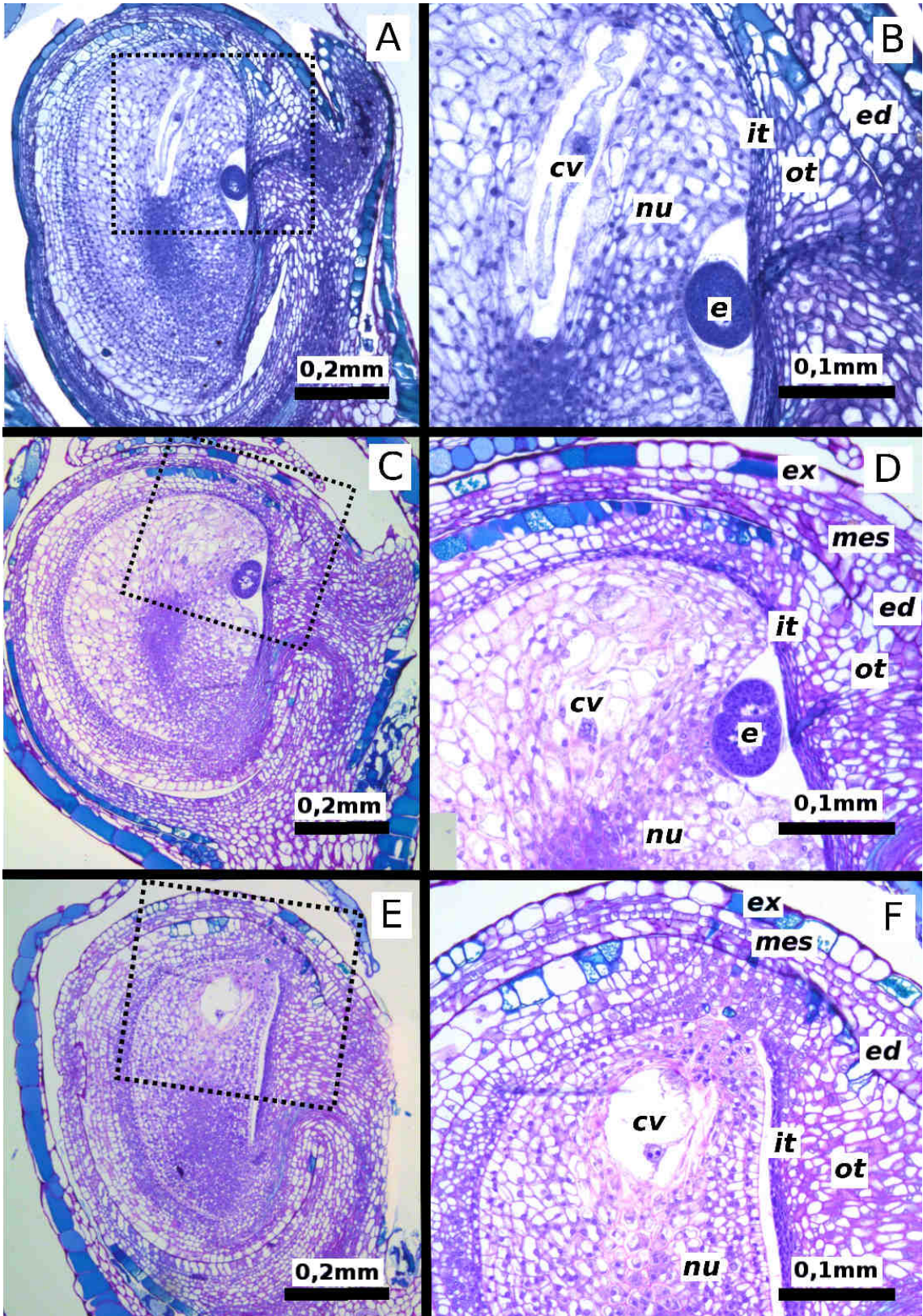
### *Terceiro estágio larval*

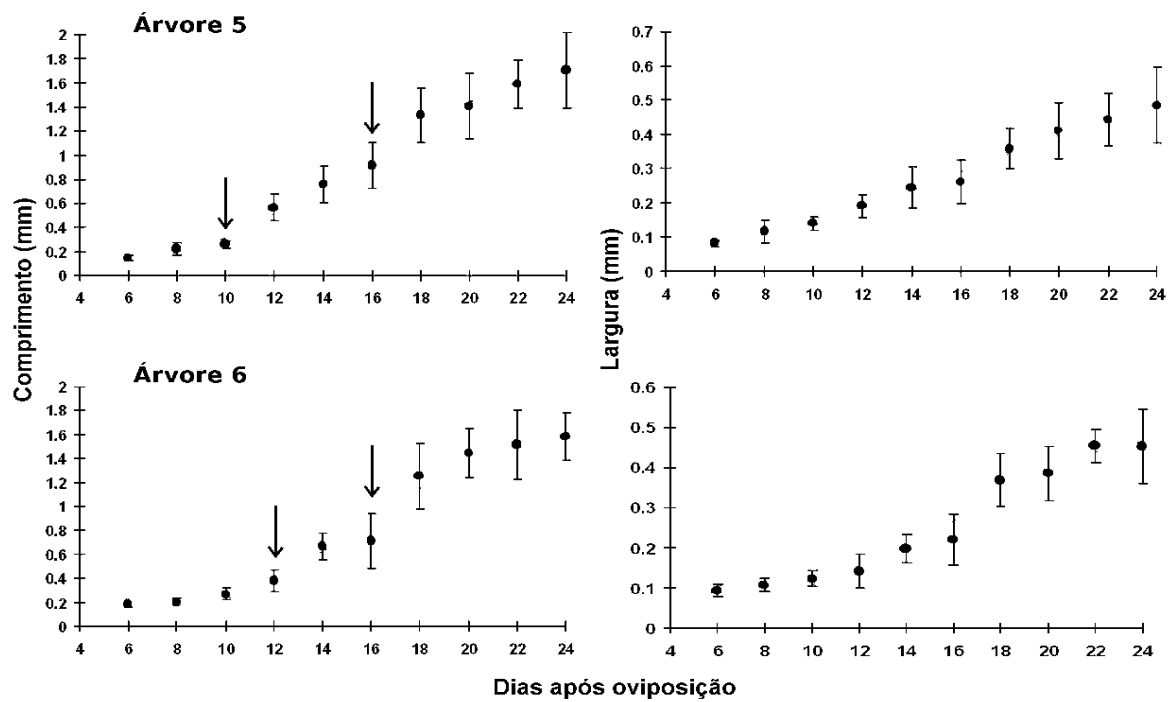
O terceiro estágio larval foi observado no 18º dia após a oviposição (comprimento:  $1,327 \pm 0,222$ ; largura:  $0,357 \pm 0,081$  mm - Figura 6D-E). Pela primeira vez foi observada a presença de aparelho bucal quitinizado. A posição dentro do ovário muda neste estágio, a larva migra para o polo superior do ovário (Figuras 7 E-F, 13A-D). O tecido vegetal ao redor da larva apresenta células hipertrofiadas, multinucleadas e com citoplasma denso, devido provavelmente à presença de substâncias nutritivas de reserva em seu interior. Neste estágio de desenvolvimento, é praticamente impossível distinguir uma galha de um ovário polinizado de outro não polinizado. Os tecidos típicos de uma semente (embrião e endosperma) se encontram desdiferenciados e se confundem com o nucelo também hipertrofiado desde a primeira fase de formação da galha. Sementes com o mesmo tempo de desenvolvimento apresentaram embrião da planta em fase globular e tecidos bem diferenciados (Figuras 13E-F).

A larva continua crescendo e se alimentando do tecido hipertrofiado, até ocupar toda a cavidade da galha.

---

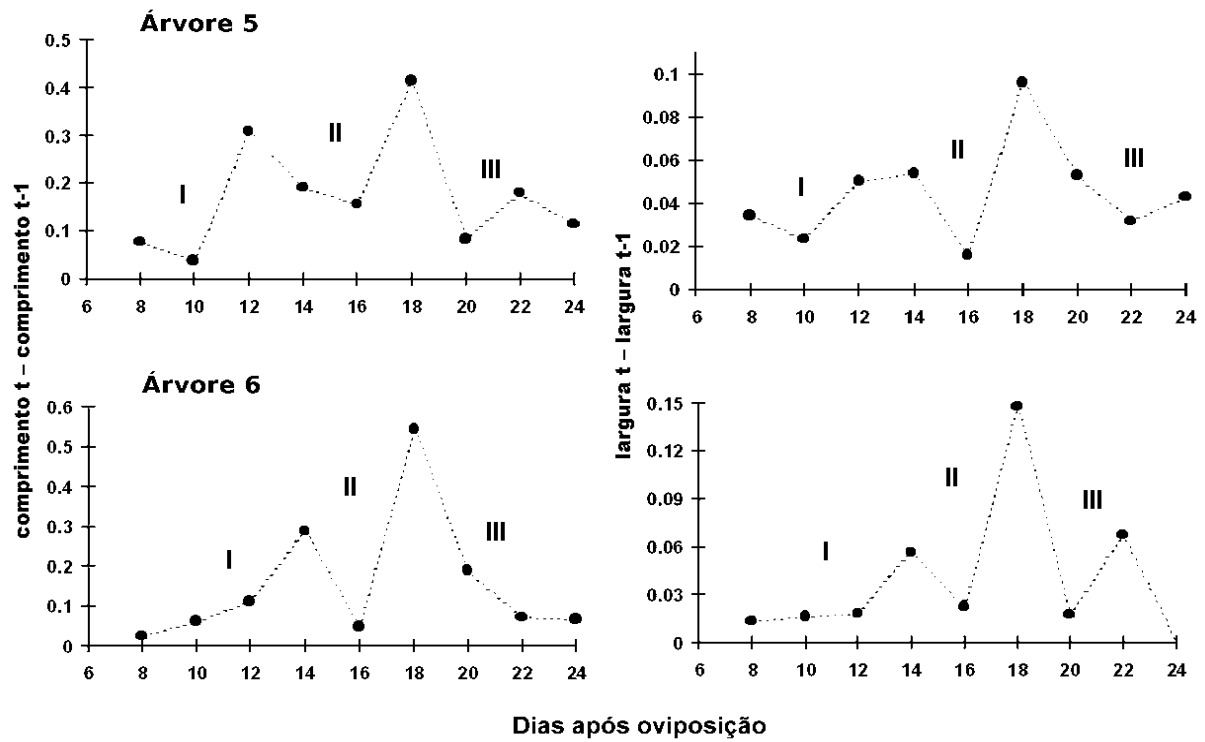
**Figura 8.** Corte longitudinal de galhas induzidas por *Idarnes* e semente normal em estágios iniciais de desenvolvimento. 2-4 dias após oviposição/polinização. A-D: localização do ovo no ovário da planta, entre o nucelo e o tegumento. A- Vista geral de flor galhada em tratamento sem polinização, área ponteadada corresponde a área em aumento em B. B- Detalhe local do ovo. C- Vista geral de flor galhada em tratamento com polinização, área ponteadada corresponde a área em aumento em D. D- local do ovo. E- Ovário fertilizado não ovipositado, área ponteadada corresponde a área em aumento em F. F- Detalhe área micropilar. *e* = ovo. *ed* = Endocarpo. *ex* = Exocarpo. *it* = Tegumento interno. *mes* = Mesodermo. *nu* = Nucelo. *ot* = Tegumento externo.



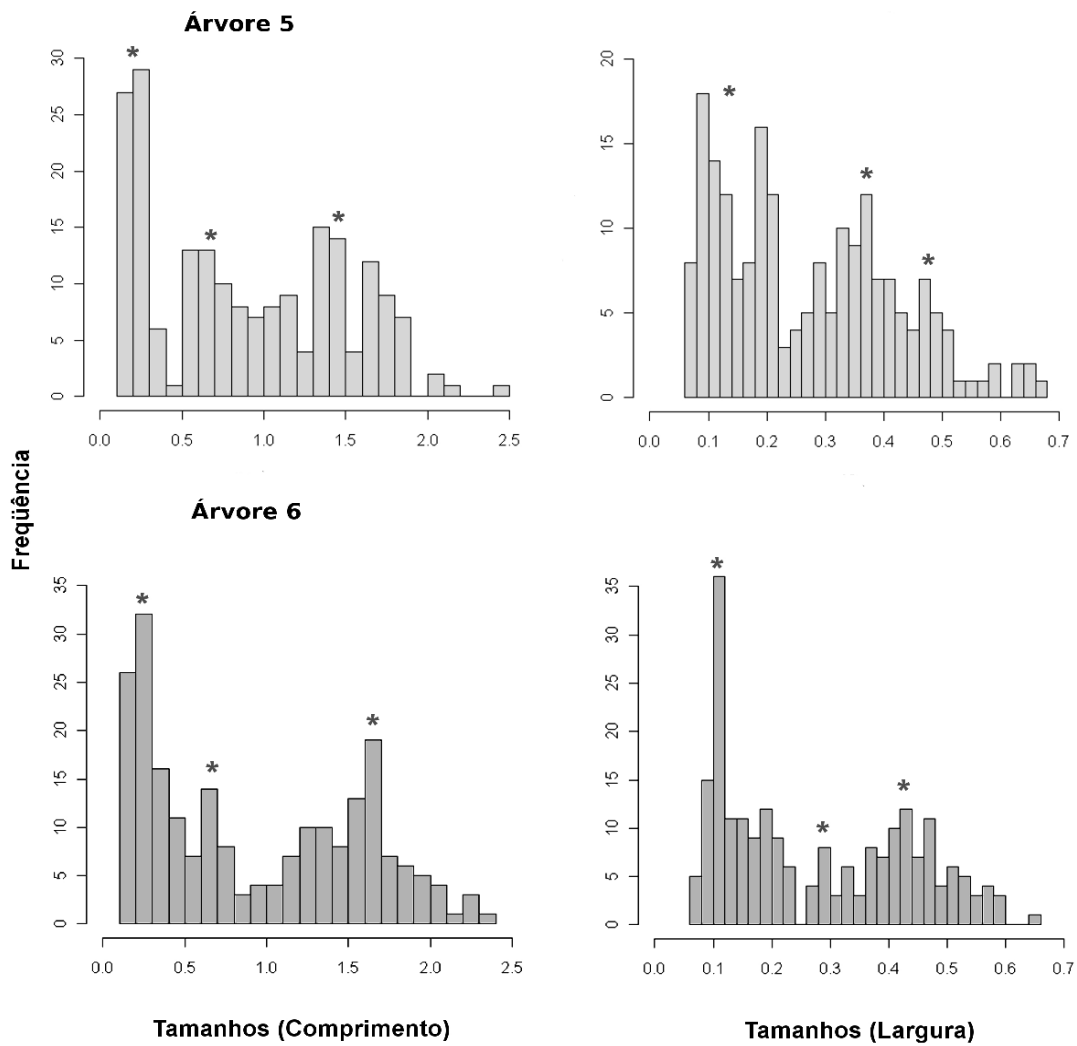


**Figura 9.** Curvas de crescimento larval de *Idarnes* sp. utilizando o comprimento total e a maior largura do corpo. Primeiro e terceiro estágio apresentam duração mais longa, o segundo estágio se localiza na parte exponencial da curva com um crescimento acelerado. As barras representam o desvio padrão da média, setas indicam o final do primeiro e do segundo estágio larval. N = 20 larvas por dia.



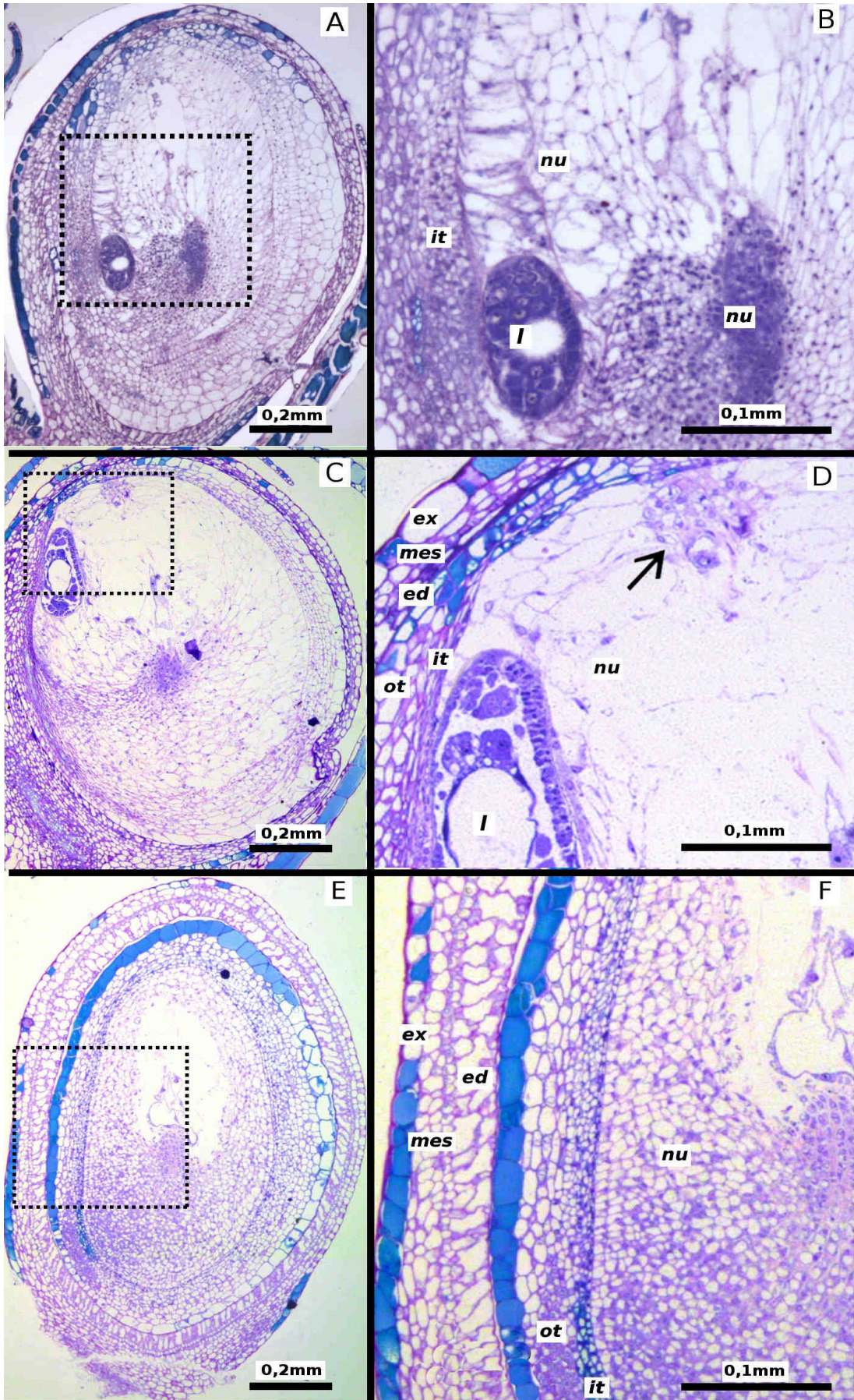


**Figura 10.** Aceleração do crescimento larval ( $\text{comprimento}_t - \text{comprimento}_{t-1}$ ) e ( $\text{largura}_t - \text{largura}_{t-1}$ ) em duas coortes de *Idarnes* sp. Os picos marcam os dias de transição entre um estágio e outro. Estádios larvais marcados com números romanos.

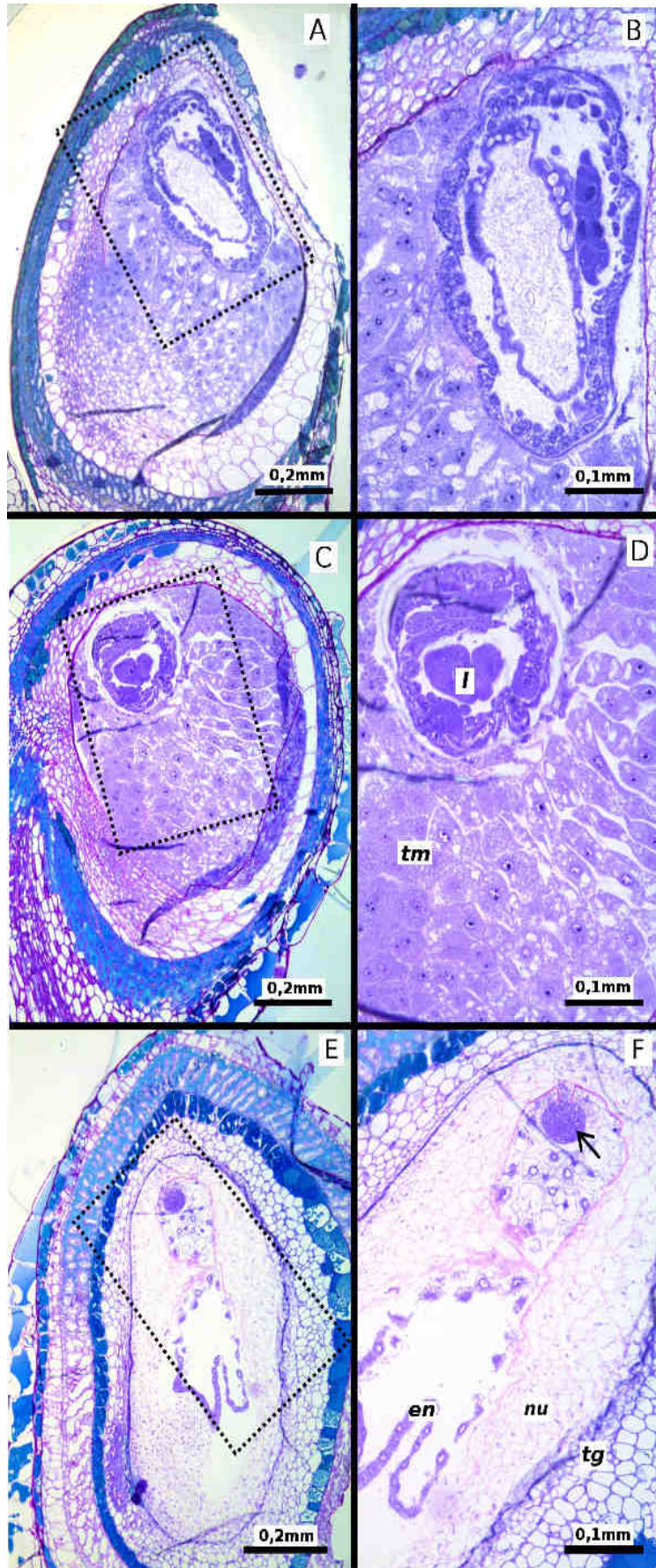


**Figura 11.** Distribuição de frequência do comprimento e largura do corpo das larvas de *Idarnes* sp. dissecadas nas duas árvores estudadas. Os asteriscos indicam os estádios larvais.

**Figura 12.** Corte longitudinal dos ovários galhados por *Idarnes* e semente normal de *Ficus citrifolia* ovipositado. 8-10 dias após oviposição/polinização. A-D: o primeiro estágio larval se encontra dentro de um nucelo com células hipertrofiadas. A- Tratamento sem polinização, área ponteadas corresponde a área em aumento em B. B- detalhe local da larva e células do nucelo hipertrofiadas. C- Tratamento com polinização, área ponteadas corresponde a área em aumento em D. D- detalhe local da larva e células do nucelo hipertrofiadas, seta aponta a restos do suspensor do embrião da planta. E- Ovário fertilizado não ovipositado, área ponteadas corresponde a área em aumento em F. F- Detalhe de tecidos da semente e nucelo não hipertrofiado. *ed* = Endocarpo. *ex* = Exocarpo. *it* = Tegumento interno. *l* = Larva. *mes* = Mesodermo. *nu* = Nucelo. *ot* = Tegumento externo.



**Figura 13.** Corte longitudinal de galhas e semente de *Ficus citrifolia* 15 dias após oviposição/polinização. A- Tratamento sem polinização, galha com terceiro estágio larval, área ponteadada corresponde a área em aumento em B. B- Larva rodeada de tecido induzido e rico em material de reserva. C- Tratamento com polinização, galha com segundo estágio larval, área ponteadada corresponde a área em aumento em D. D- larva rodeada de tecido induzido e rico em material de reserva. E- Semente, área ponteadada corresponde a área em aumento em F. F- Detalhe de tecidos da semente, seta aponta a embrião da planta em fase globular. *en*=endosperma. *l* = Larva. *nu* = Nucelo. *tg* = Tegumento. *tm*= Tecido modificado.



### 4.3 Eulophidae sp. – *Philodendron bipinnatifidum*

#### 6.3.1 Relação polinização – formação de galhas

Todas as inflorescências do tratamento sem oviposição–sem polinização abortaram. No tratamento oviposição–com polinização a taxa de aborto foi baixa, enquanto que as inflorescências do tratamento oviposição–sem polinização apresentaram taxa de aborto maior que 50%. A retenção de algumas infrutescências nesse último tratamento indica que as vespas conseguem evitar o aborto da inflorescência na ausência de polinização (Tabela 5).

**Tabela 5.** Taxa de aborto (nº de inflorescências avaliadas entre parênteses) e produção de galhas e frutos em experimentos em *Philodendron bipinnatifidum*. Ver Materiais e Métodos para detalhes dos experimentos (p. 17). Valores representam a média  $\pm$  desvio padrão das variáveis quantificadas.

Variáveis	Tratamentos				
	Vespas Pólen	+	+	-	-
Aborto (%)		33 (15)	64 (28)	33 (24)	100 (24)
Inflorescências retidas		7	5	7	na
Somente galhas		126 $\pm$ 120	239 $\pm$ 59	0	na
Galhas + sementes		27 $\pm$ 28	0	0	na
Sem galhas, sem sementes		44 $\pm$ 39	34 $\pm$ 23	37 $\pm$ 37	na
Somente sementes		111 $\pm$ 110	0	275 $\pm$ 96	na
Total flores/frutos		307 $\pm$ 107	273 $\pm$ 52	306 $\pm$ 113	na

O número total de flores por inflorescência variou muito tanto entre inflorescências de um mesmo indivíduo quanto entre inflorescências de indivíduos diferentes. Quando a polinização e oviposição acontecem em uma mesma inflorescência, o sucesso de formação de galhas e sementes apresentou uma relação inversa, com produção predominante de galhas ou de sementes, com poucas ocorrências de galhas e sementes na mesma inflorescência.

Nas inflorescências onde ocorreu oviposição em flores não polinizadas, a quantidade de frutos galhados foi alta, chegando a valores similares ao número de frutos no tratamento “polinização sem oviposição” (Tabela 5). Isto indica que as vespas são capazes de infestar a maioria das flores de uma inflorescência na ausência de polinização.

#### 4.3.2 Desenvolvimento das galhas e larvas

Devido à dificuldade de manipulação em *P. bipinnatifidum*, o desenvolvimento larval completo foi avaliado apenas em duas inflorescências não polinizadas. A seguir são descritos os estádios imaturos de Eulophidae sp. e sua relação com o processo de formação da galha.

##### *Ovo*

O ovo (1-5 dias após oviposição) é de formato elíptico [comprimento  $\pm$  desvio padrão:  $0,218 \pm 0,022$ , largura  $0,070 \pm 0,007$  mm], com um longo pedúnculo, varias vezes o comprimento do ovo (Figura 15A).

Os ovos são colocados ao lado do óvulo da flor e ancorados pelo pedúnculo ao funículo de cada óvulo (Figuras 16D, 17A-B). Podem-se encontrar de maneira individual ou em grupos de dois a quatro. O local de inserção do ovipositor é variável, podendo ser inserido ao lado do estigma ou através da parede lateral da flor (Figuras 16A-C).

##### *Larvas*

As curvas de crescimento, aceleração do crescimento e frequência de tamanho não mostraram resolução suficiente para delimitar estádios larvais por meio do tamanho do corpo (Figura 14). Ao longo das dissecações perceberam-se duas trocas cuticulares, indicando a possível presença de três estádios larvais. O primeiro estágio larval ocorreu entre o 5°-15° dia, o segundo entre os 20°-25° dia e o terceiro entre os 30°-35 dia. Todos os estádios larvais apresentam aparelho bucal quitinizado e o corpo dividido em 13 a 14 segmentos (Figuras 15 B-E).

##### *Primeiro estágio larval*

O primeiro estágio larval foi encontrado no 5° dia após oviposição (comprimento:  $0,312 \pm 0,097$ , largura:  $0,113 \pm 0,050$  mm – Figuras 15B). A larva nesse estágio se encontra no espaço locular da flor (Figuras 16E-F, 17C-F) e possivelmente se alimenta da mucilagem abundante nesta cavidade.



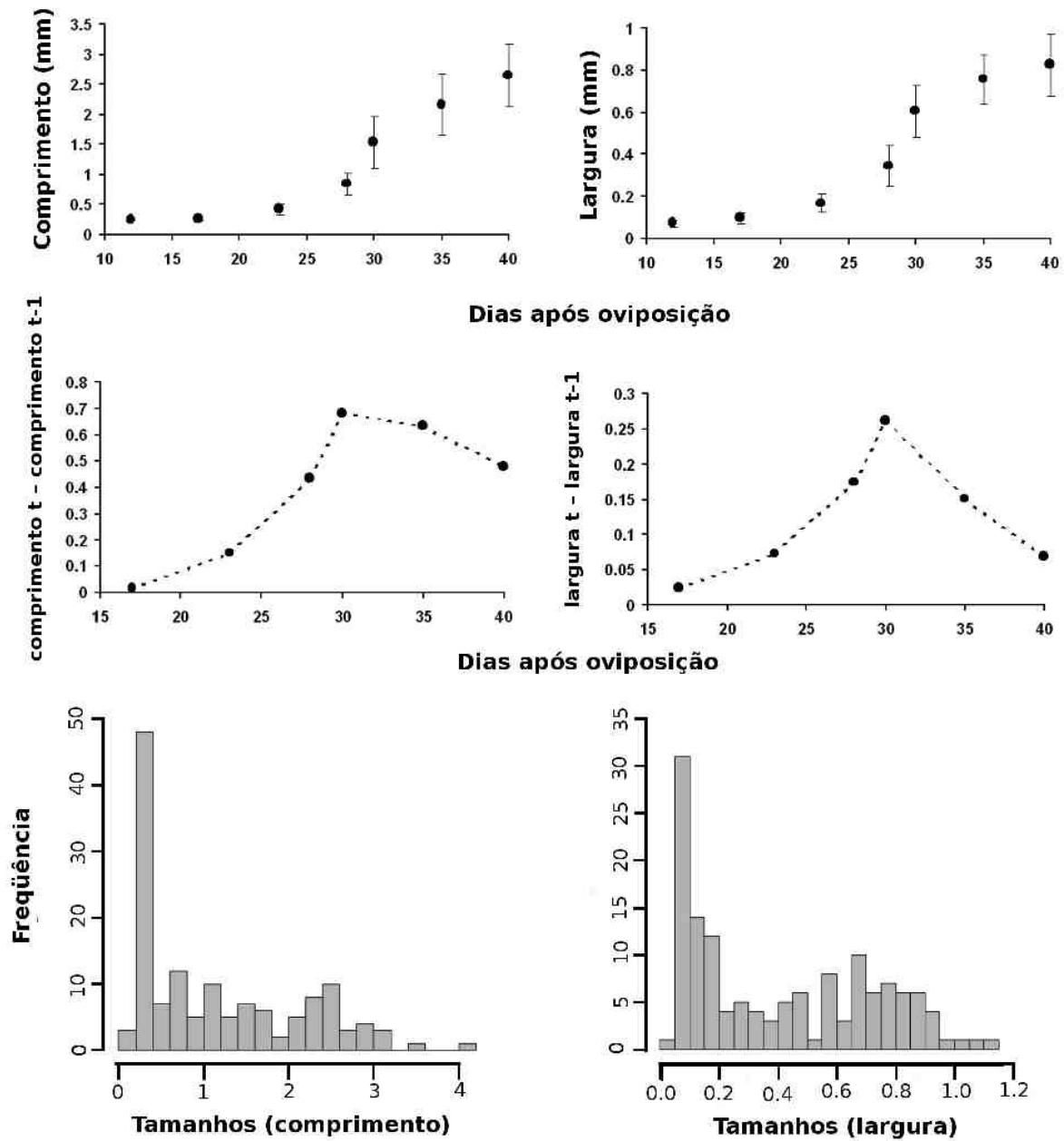
### *Segundo estágio larval*

O segundo estágio larval foi encontrado no 20º dia após oviposição (comprimento:  $1,193 \pm 0,471$ ; largura:  $0,475 \pm 0,172$  mm - Figuras 13C-D). A segmentação neste estágio é pouco evidente. O início do segundo estágio larval coincide com o inchamento do óvulo da planta, tornando evidente a formação da galha (Figura 18). O processo de inchamento é causado pela indução desordenada de divisões celulares no tegumento e nucelo do óvulo (Figura 18C). As células induzidas apresentam vacúolos grandes e grânulos de amido em seu interior. O processo é acompanhado pela penetração da larva, através da parede de cada óvulo (Figuras 18B-E). Após a penetração da larva, o crescimento do tecido continua, envolvendo a larva que finalmente se posiciona no centro da galha.

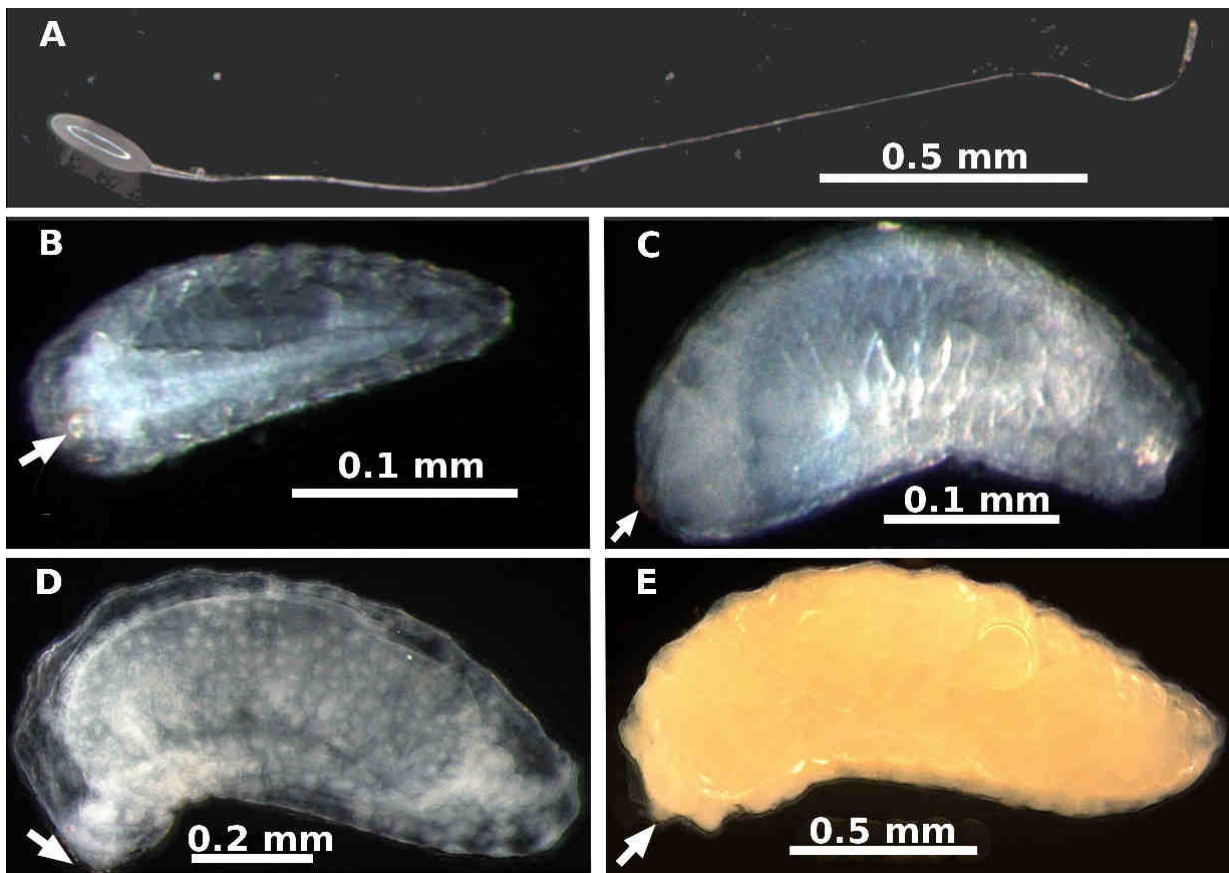
O processo de indução da galha parece ser bastante agressivo, pois dependendo da localização da larva dentro da flor, tecidos não pertencentes ao óvulo da planta podem sofrer alterações similares. A Figura 19 mostra tecidos do septo locular e a parede da própria flor sofrendo as mesmas alterações descritas para o nucelo e tegumento do óvulo.

### *Terceiro estágio larval*

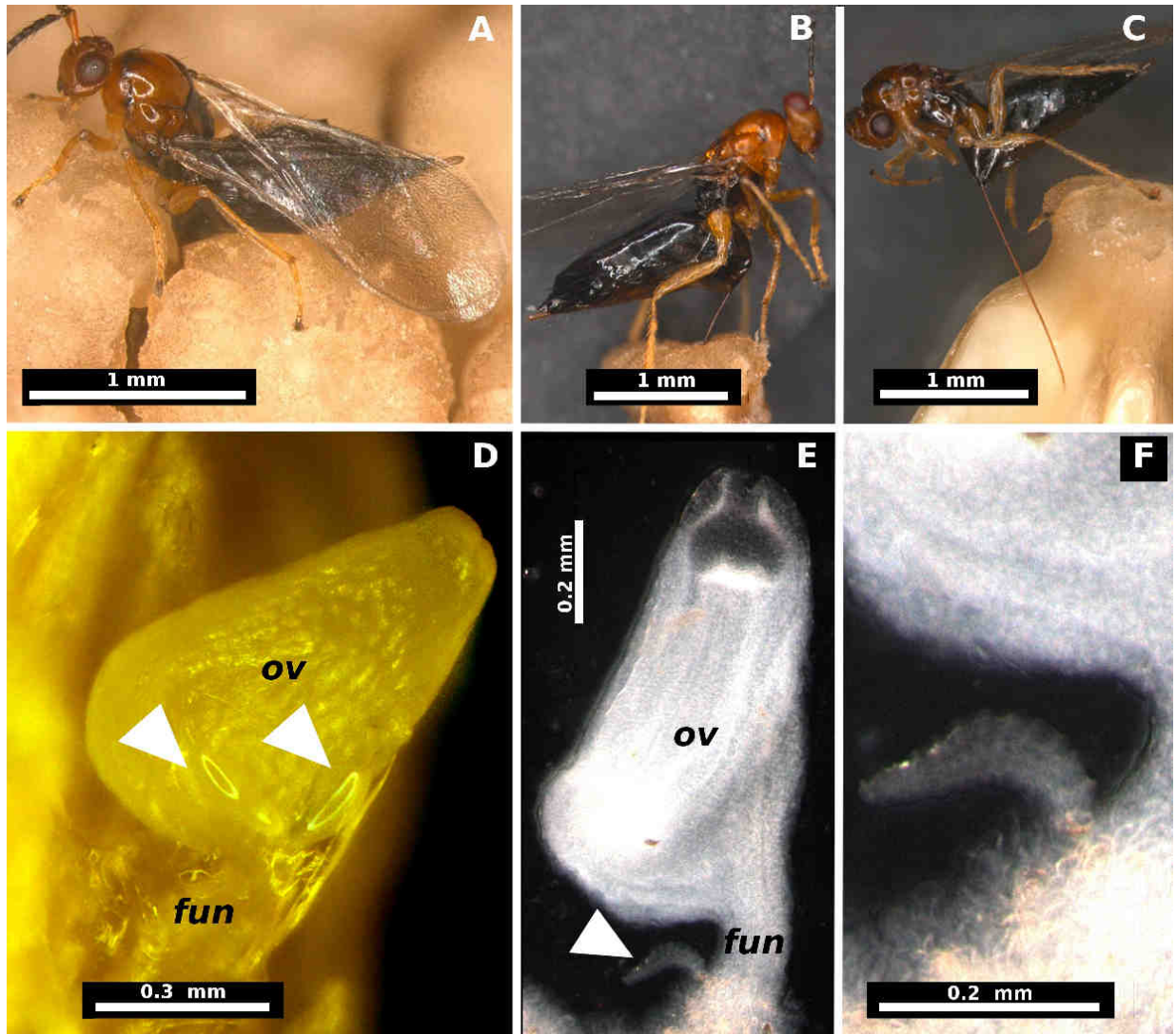
O terceiro estágio larval foi observado no 30º dia após oviposição (comprimento:  $2,407 \pm 0,562$ ; largura:  $0,791 \pm 0,137$  mm - Figura 15E). Este estágio permanece dentro da galha, consumindo o tecido formado por células hipertrofiadas (Figura 20), até atingir o estágio de pupa.



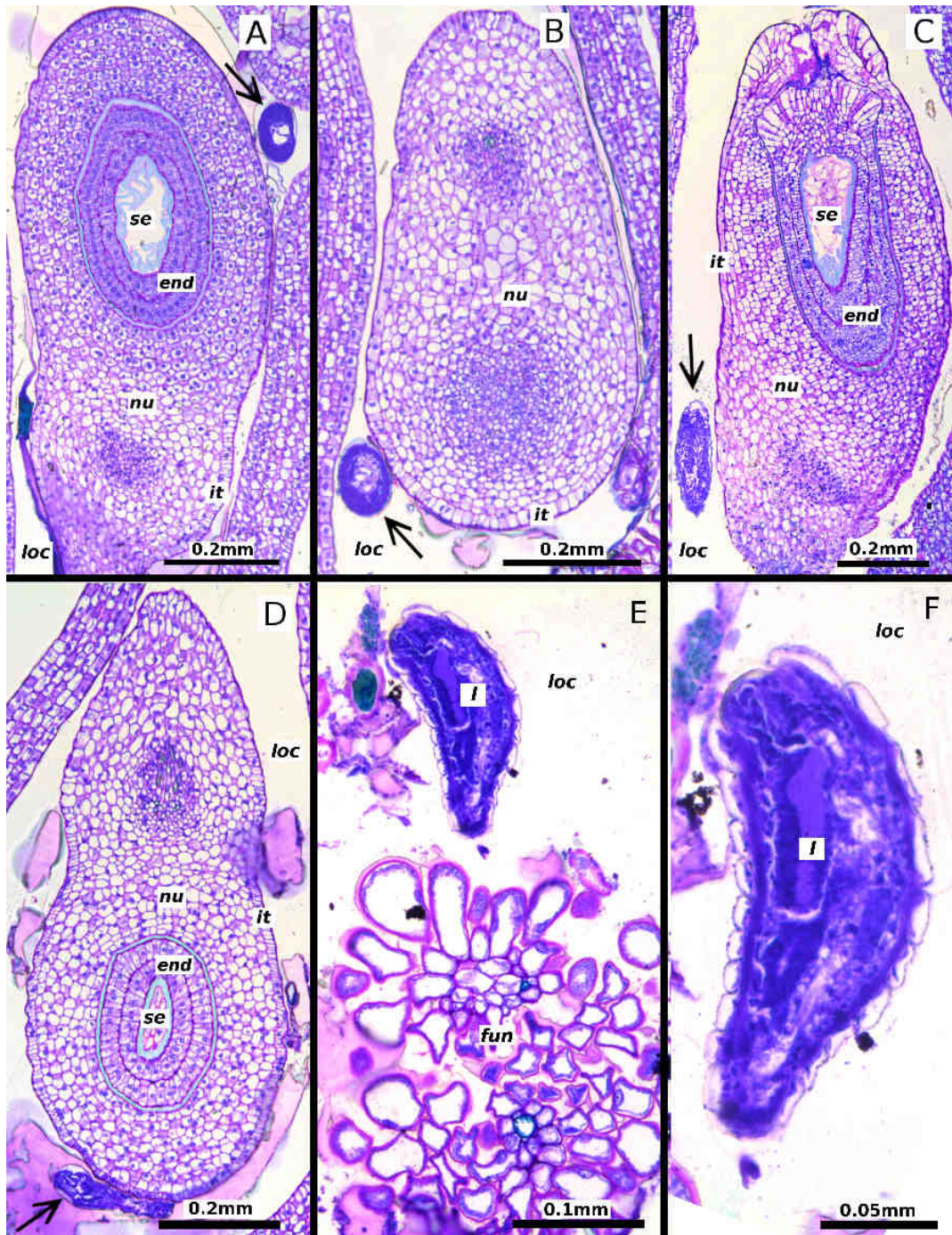
**Figura 14.** Curvas de crescimento, gráficos de ( $\text{comprimento}_t - \text{comprimento}_{t-1}$ ) e ( $\text{largura}_t - \text{largura}_{t-1}$ ) e de distribuição de frequência do comprimento e largura do corpo das larvas de Eulophidae sp.



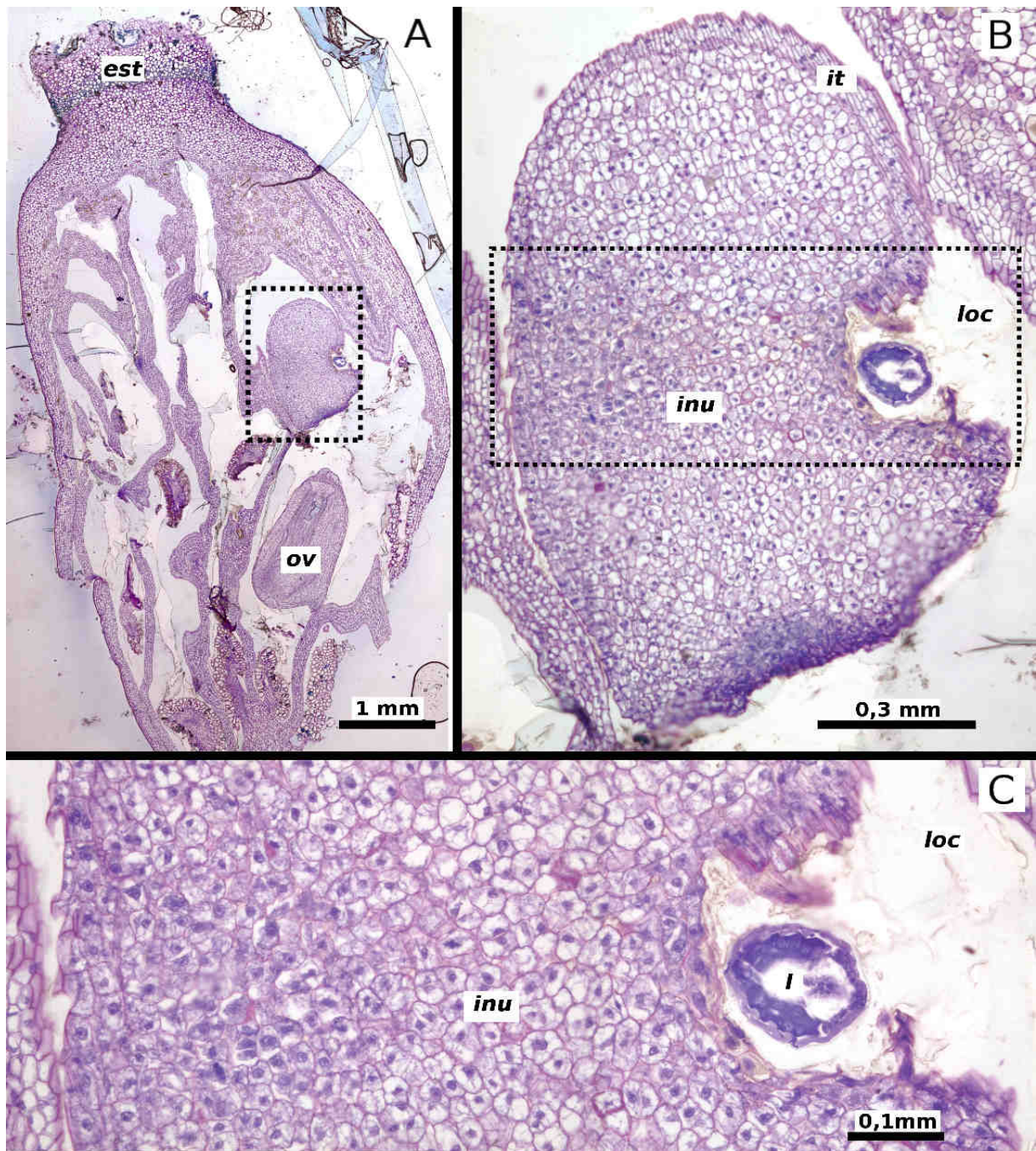
**Figura 15.** Estádios imaturos de Eulophidae sp. A. ovo com pedúnculo; B-C 1º instar larval (7 dias em B e 17 dias em C); D. 2º instar larval (25 dias); E. 3º instar larval (37 dias). Setas indicam aparato bucal quitinizado.



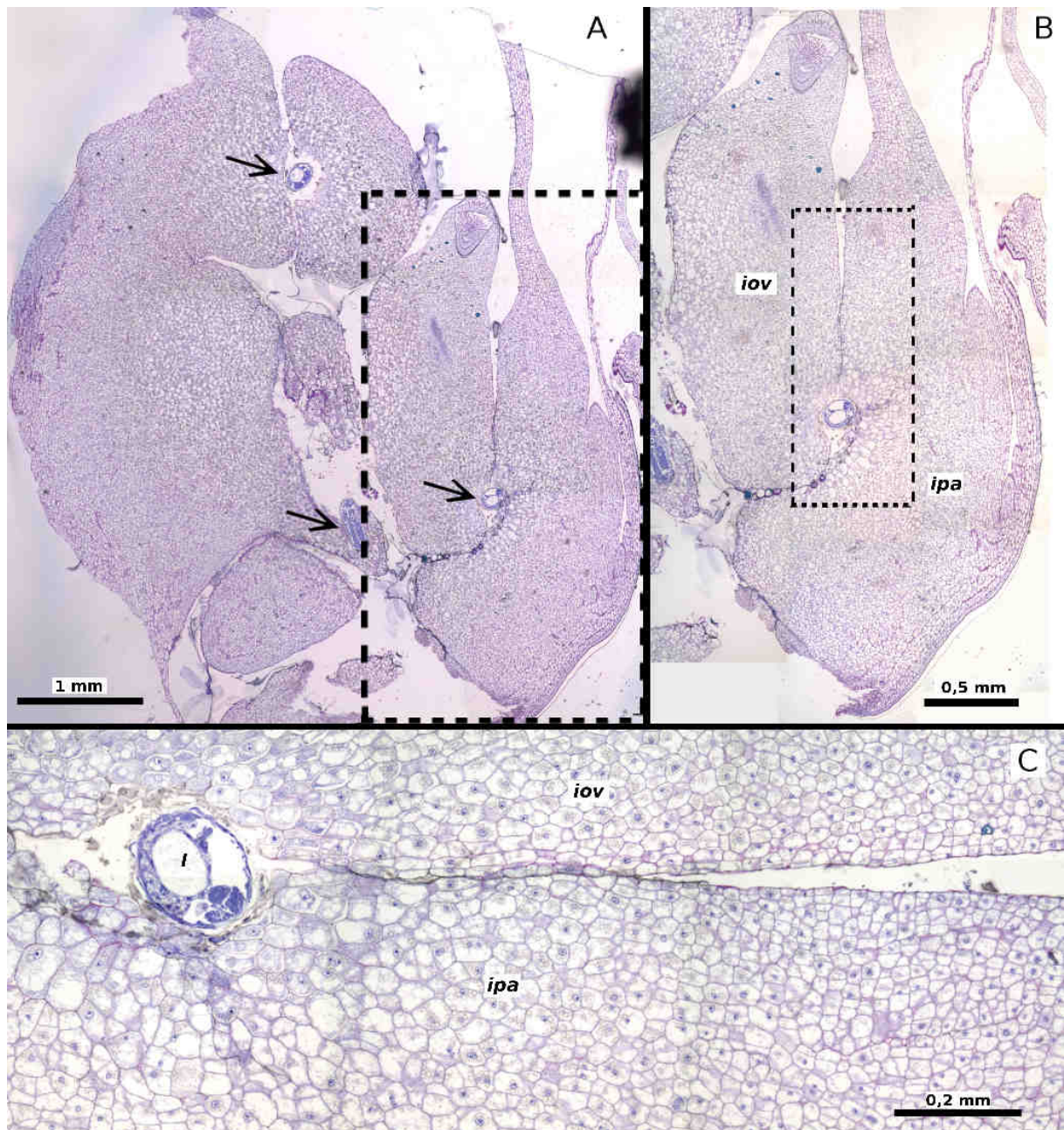
**Figura 16.** A- Eulophidae ovipositando. B- Ovipositor inserido pelo estigma da flor. C- Ovipositor inserido lateralmente. D- Detalhe do local de oviposição de Eulophidae sp. em flor pistilada de *P. bipinnatifidum*, setas mostram dois ovos depositados sobre óvulo da planta . E- Primeiro estágio larval (seta) no espaço locular da flor pistilada. F- Detalhe larva imagem E. *fun.*= Funículo, *ov.*=óvulo da planta.



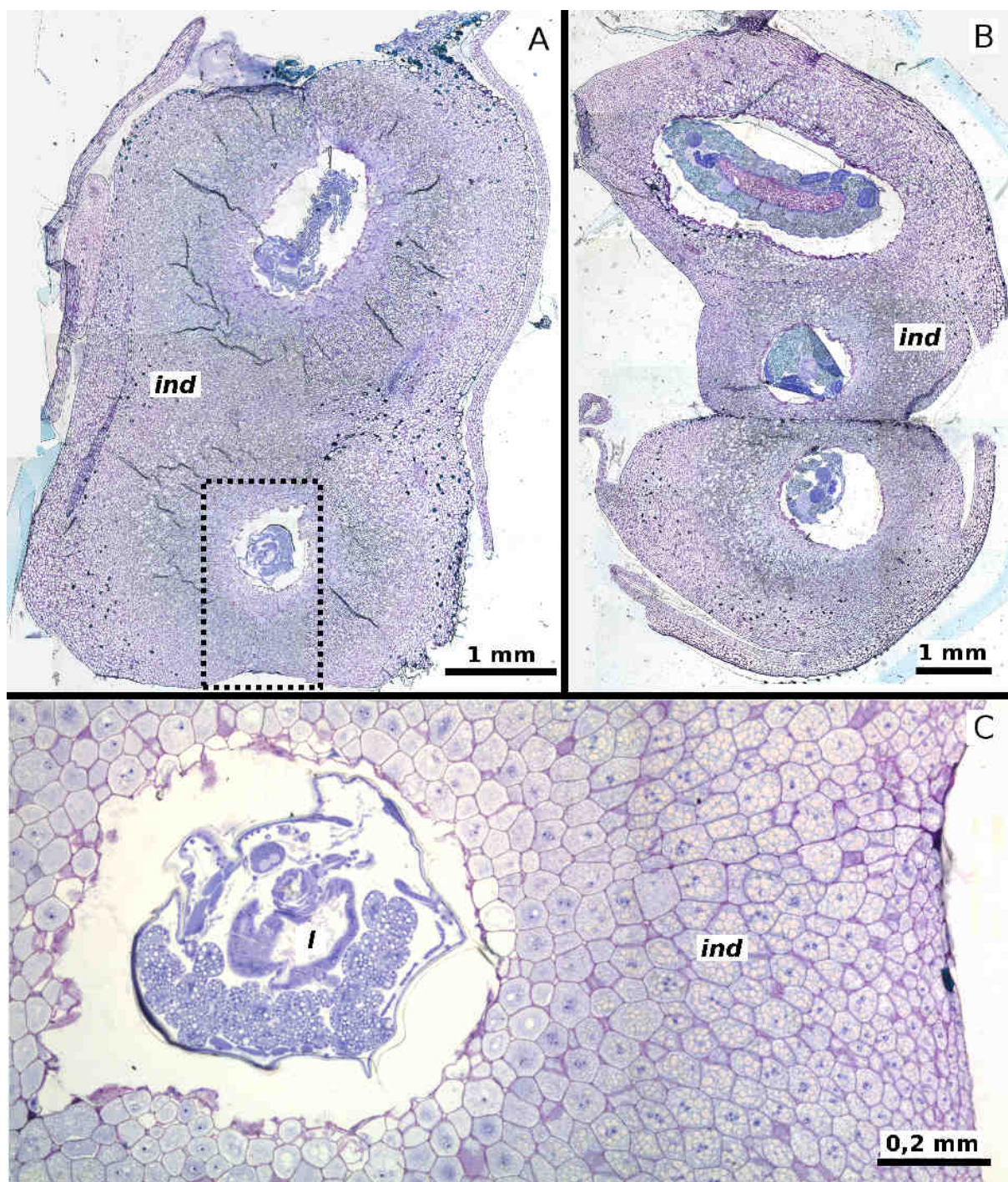
**Figura 17.** Corte longitudinal com óvulos de *P. bipinnatifidum* com estádios imaturos de *Eulophidae* sp. As larvas ficam livres dentro do espaço locular, encontrando-se em posições diferentes em relação ao óvulo da planta. A-B. Óvulos da planta com ovo (seta). C-D. Óvulos com larva de primeiro estágio (setas). E-F. Detalhe larva dentro do espaço locular, perto do estilete da flor. *end* = endotélio. *fun* = Funículo. *it* = Tegumento interno. *l* = Larva. *loc* = espaço locular. *nu* = Nucelo. *se* = saco embrionário.



**Figura 18.** Óvulos de *P. bipinnatifidum* em processo de formação de galha. 20-25 dias após oviposição. A- Corte longitudinal da flor pistilada. B- Detalhe da região destacada em A mostrando o óvulo com a larva de segundo estágio no início da penetração. C- Detalhe da região destacada em B mostrando células em divisão no processo de indução da galha. *inu* = Nucelo induzido. *it* = tegumento interno. *loc* = espaço locular. *ov* = óvulo não galhado.



**Figura 19.** Óvulos de *P. bipinnatifidum* em processo de formação de galha. A- Conjunto de óvulos galhados, setas apontam as larvas dentro das galhas. B- Detalhe da região destacada em A: galha com larva no meio de óvulo induzido e elementos de parênquima da parede ou septo locular. C- Detalhe da região destacada em B: larva inserida no tecido alterado (células hipertrofiadas e em processo de divisão). *iov* = tecido do óvulo induzido pela larva. *ipa* = elementos de parênquima induzido. *l* = larva.



**Figura 20.** Óvulos galhados de *P. bipinnatifidum*. A-B. Conjunto de galhas contendo larvas de Eulophidae sp. de terceiro estágio. C. Detalhe da região destacada em A, Larva dentro de galha, células vegetais ricas em reserva. *ind* = elementos de parênquima induzido. *l* = larva.



#### 4.4 *Bephratelloides pomorum* – *Annona crassiflora*

##### *Ovo*

*Bephratelloides pomorum* geralmente oviposita em frutos de 30-35 dias. O ovo (1-20 dias após oviposição) é de formato elíptico [comprimento  $\pm$  Desvio Padrão:  $0,372 \pm 0,056$ , largura  $0,181 \pm 0,025$  mm; N=20], com um pedúnculo 5 a 8 vezes maior que o comprimento do ovo (Figura 21 A-B).

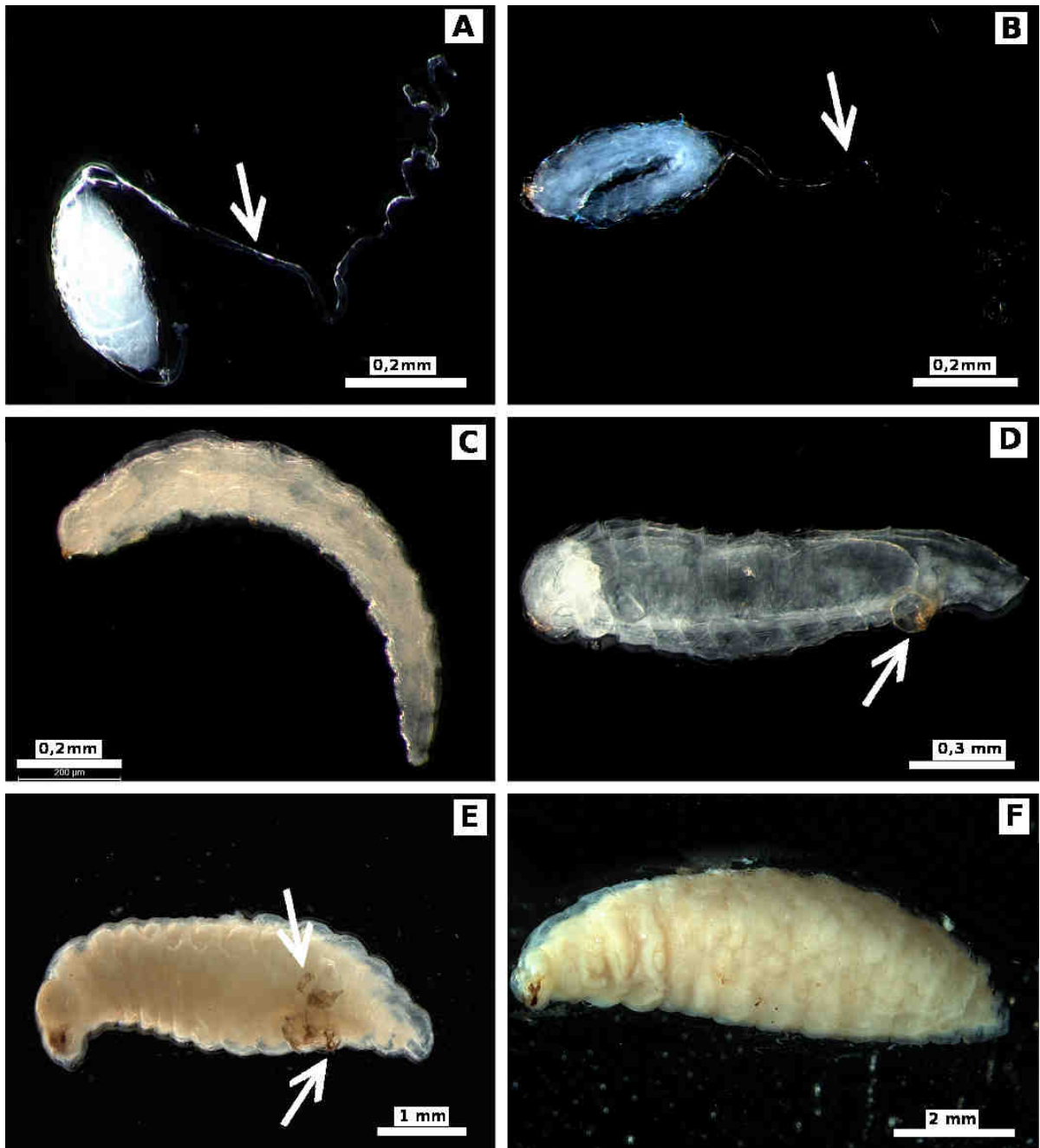
Os ovos são colocados dentro do endosperma da semente em desenvolvimento (Figuras 22B; 23A-C). O ovipositor é inserido indiscriminadamente na semente, sendo observado cicatrizes e ovos ancorados em regiões diferentes da semente (Figura 22A-B). O ovo fica sempre ancorado pelo pedúnculo na parte interna do tégmen da semente. Podem-se encontrar vários ovos em uma mesma semente. Não houve diferenças visuais entre as sementes ovipositadas e não ovipositadas (Figuras 22 B-C; 23A-C e 23 G-I).

##### *Larvas*

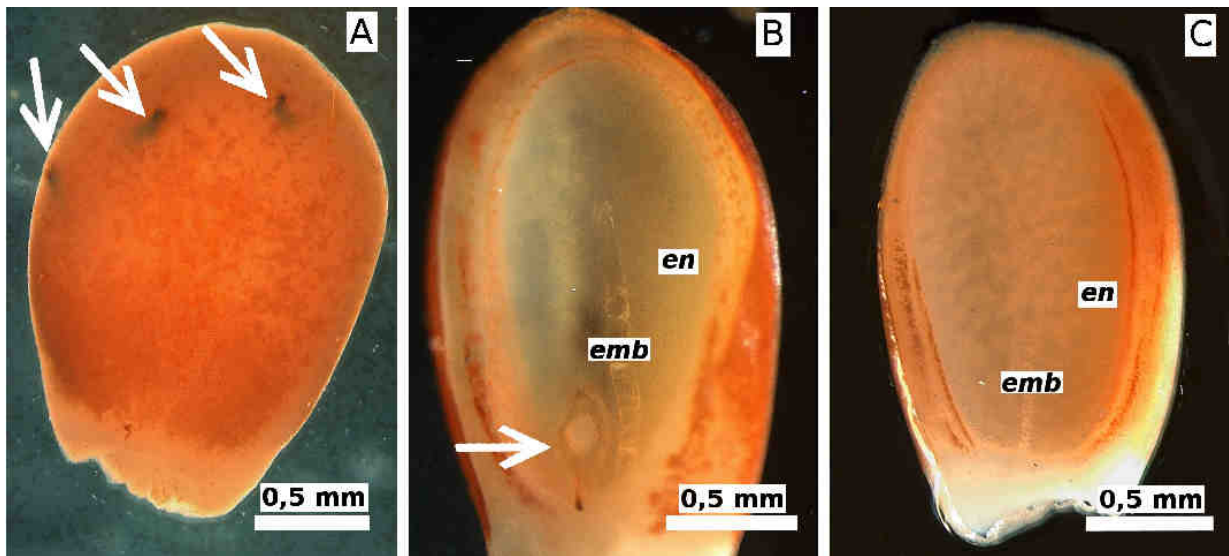
Foram encontradas três cápsulas cefálicas durante o desenvolvimento da larva, indicando a ocorrência de quatro estádios larvais. Todos os estádios apresentam 15 segmentos, incluindo a cápsula cefálica bem definida com mandíbulas quitinizadas (Figuras 21 C-F). O primeiro estágio larval tem duração mais longa. O crescimento larval do segundo ao terceiro estágio é bastante acelerado. Nos últimos estádios larvais, os recursos da semente são rapidamente consumidos.

O *primeiro estágio larval* foi observado entre 25° e 35° dia após a oviposição (comprimento:  $0,820 \pm 0,170$ ; largura:  $0,136 \pm 0,019$  mm; N= 12 - Figura 21C). A larva se localiza geralmente dentro do endosperma (Figuras 23 D-F). Em alguns casos estava inserida dentro do embrião da planta, sem impacto aparente (Figura 24). Neste estágio foram observadas sementes com mais de uma larva. Não há diferenças visuais entre sementes parasitadas e não parasitadas (Figuras 24A-B e C-D).

O *segundo estágio larval* foi observado entre o 43° e 47° dia (comprimento:  $2,361 \pm 0,806$ ; largura:  $0,658 \pm 0,242$  mm; N= 12 - Figura 21D). Nesta fase o embrião da semente ocupa a maior parte da cavidade seminal. Foram observadas larvas consumindo parte do embrião e do endosperma (Figuras 25 e 26). Geralmente o ataque à semente se inicia pela região próxima ao



**Figura 21.** Estádios imaturos de *B. pomorum*. A- ovo, seta aponta o pedúnculo. B- Larva dentro do córion do ovo, seta aponta o pedúnculo. C- 1º instar larval (35 dias). D- 2º instar larval (43 dias); seta aponta a cápsula cefálica do instar anterior aderida ao corpo. E- 3º instar larval (50 dias); setas apontam a cápsulas cefálicas dos dois instares anteriores aderidas ao corpo. F- 4º instar larval (57 dias).

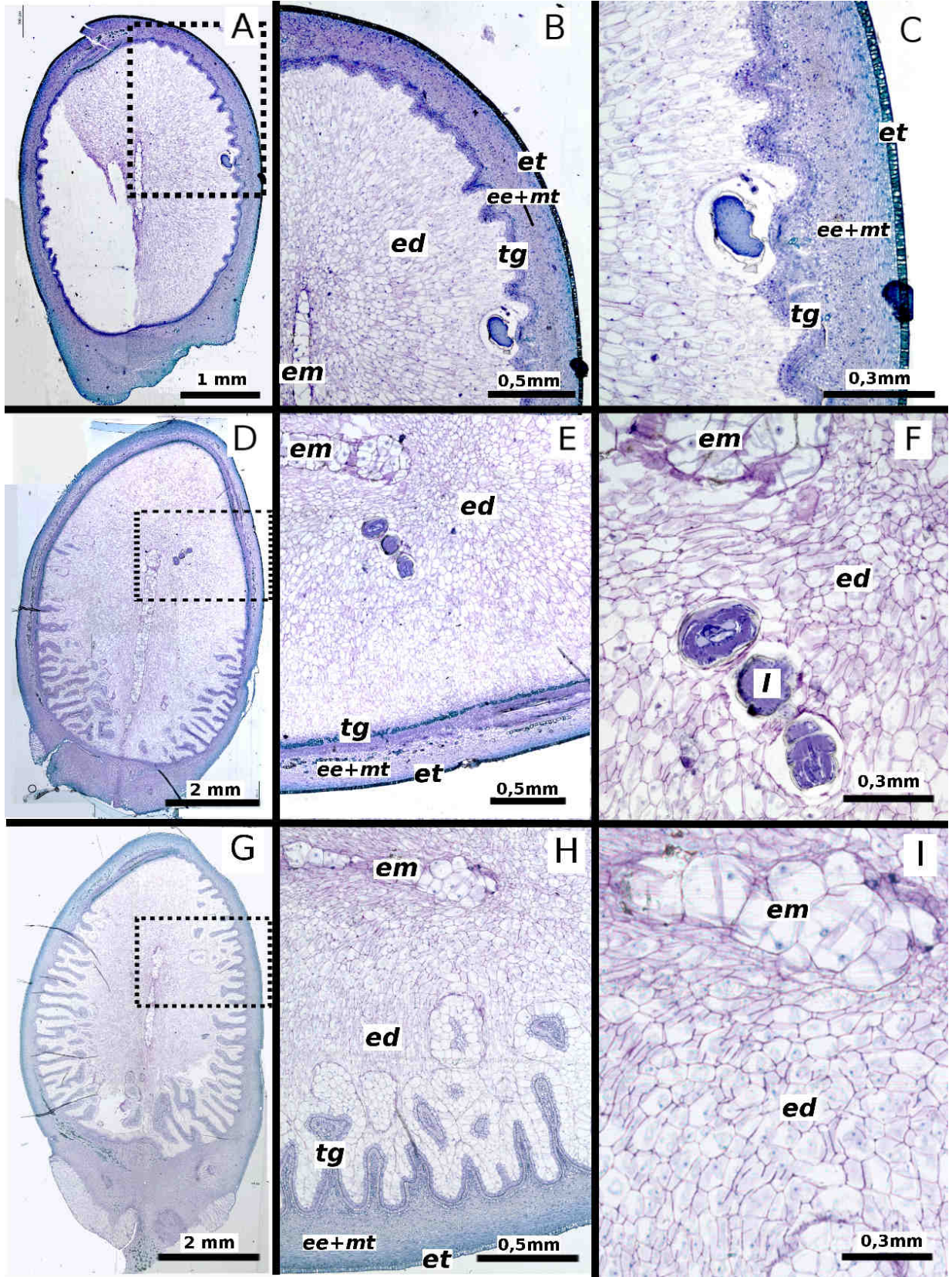


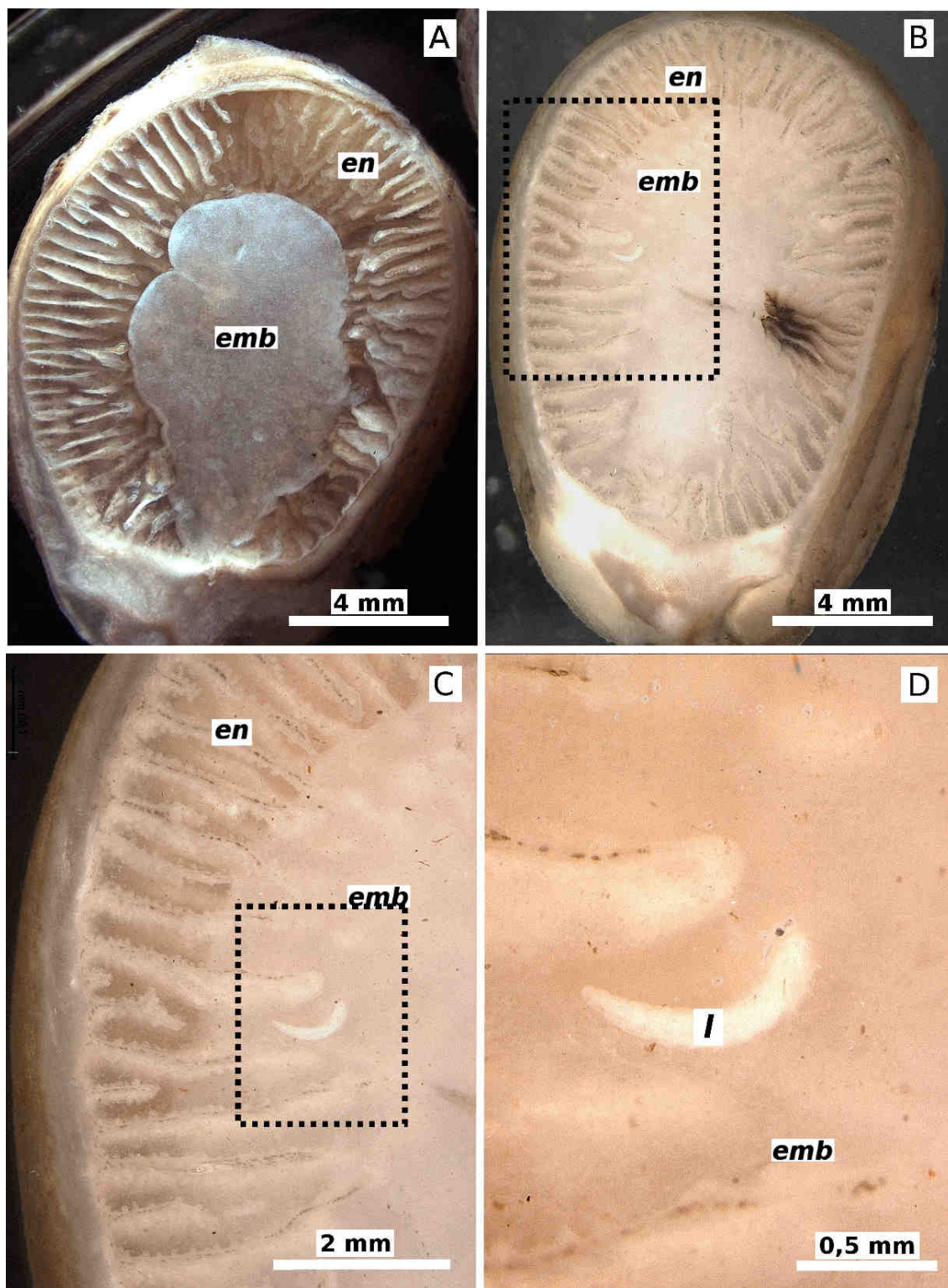
**Figura 22.** Sementes de *A. crassiflora* em estágio em que *B. pomorum* oviposita. A- Semente ovipositada, setas mostram cicatrizes de ovipositor. B- Corte longitudinal de semente ovipositada, seta mostra local do ovo. C- Semente não ovipositada, em mesma idade de B. *emb* = Embrião da planta. *en* = Endosperma.

suspensor do embrião (Figuras 27B-C). Não há diferenças visuais entre sementes parasitadas e não parasitadas (Figuras 25A-C e 25D-F).

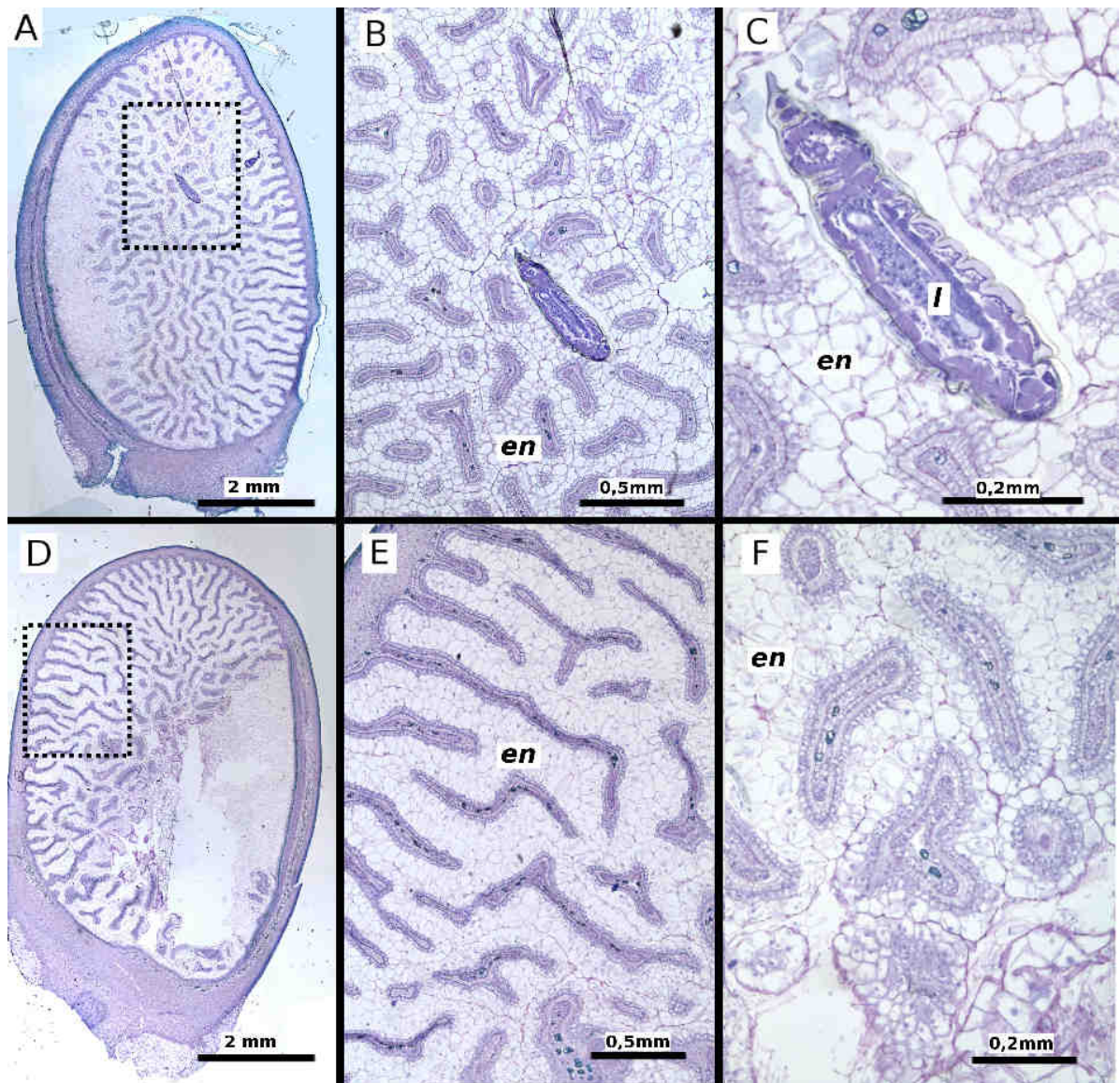
O *terceiro estágio larval* foi observado entre o 48º e 50º dia (comprimento:  $4,560 \pm 1,191$ ; largura:  $1,335 \pm 0,252$  mm; N= 10 - Figura 21E-F), e o quarto estágio larval foi encontrado entre o 54º e 60º dia após a oviposição (comprimento:  $8,086 \pm 1,515$ ; largura:  $2,366 \pm 0,415$  mm; N= 20 - Figura 21F). O consumo da semente continua e a cavidade onde se encontra a larva se expande (Figuras 27E-F) até ocupar aproximadamente 80% do volume da semente (Figura 28). A larva atinge seu tamanho máximo e começa a formação da pupa. Exceto o consumo dos tecidos da semente, não foi observado alterações morfológicas das células ou indícios de indução de galha na semente (Figura 27).

**Figura 23.** Sementes de *A. crassiflora* ovipositadas e não ovipositada por *B. pomorum*. A- Semente recém ovipositada. B- Detalhe da região destacada em A, localização do ovo dentro do endosperma. C- Detalhe localização do ovo. D- Semente com larva de primeiro estágio. E- Detalhe da região destacada em D, larva dentro de endosperma da semente. F- Detalhe localização larva. G- Semente não parasitada. H- Detalhe da região destacada em G, detalhe tecidos semente não parasitada. I- Detalhe endosperma semente não parasitada. *ed* = Endosperma. *ee+mt* = endotesta + mesotesta. *em* = Embrião interno. *et* = exotesta. *l* = Larva. *tg* = tégmen.

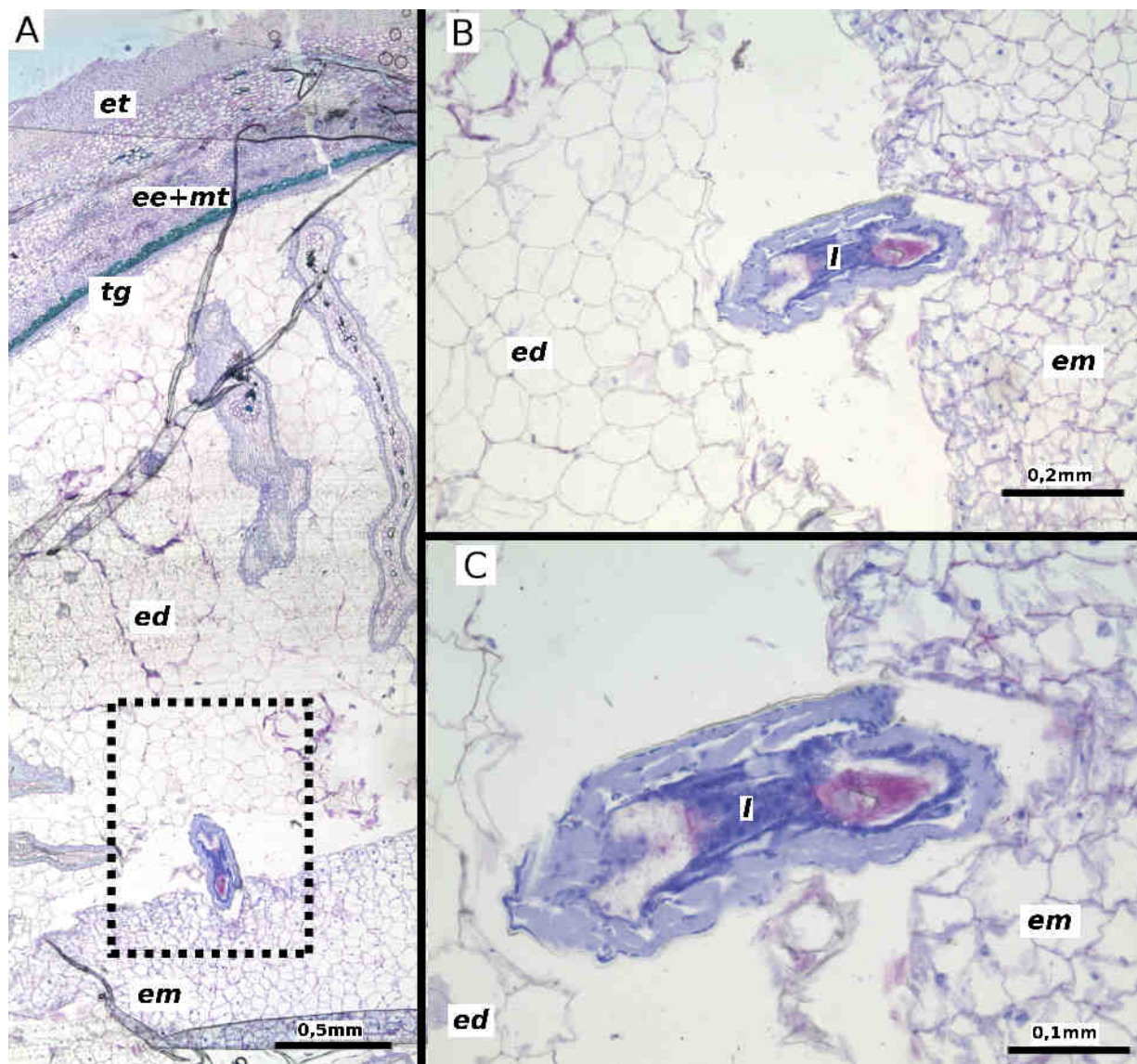




**Figura 24.** Corte longitudinal sementes de *A. crassiflora*. A- Semente não parasitada com cotilédones do embrião em crescimento. B- Semente parasitada em mesmo estágio de desenvolvimento que em A. C- Detalhe da região destacada em B mostrando a larva inserida no embrião da planta. D- Detalhe da região destacada em C indicando a larva. *emb* = Embrião da planta. *en* = Endosperma. *l* = Larva.

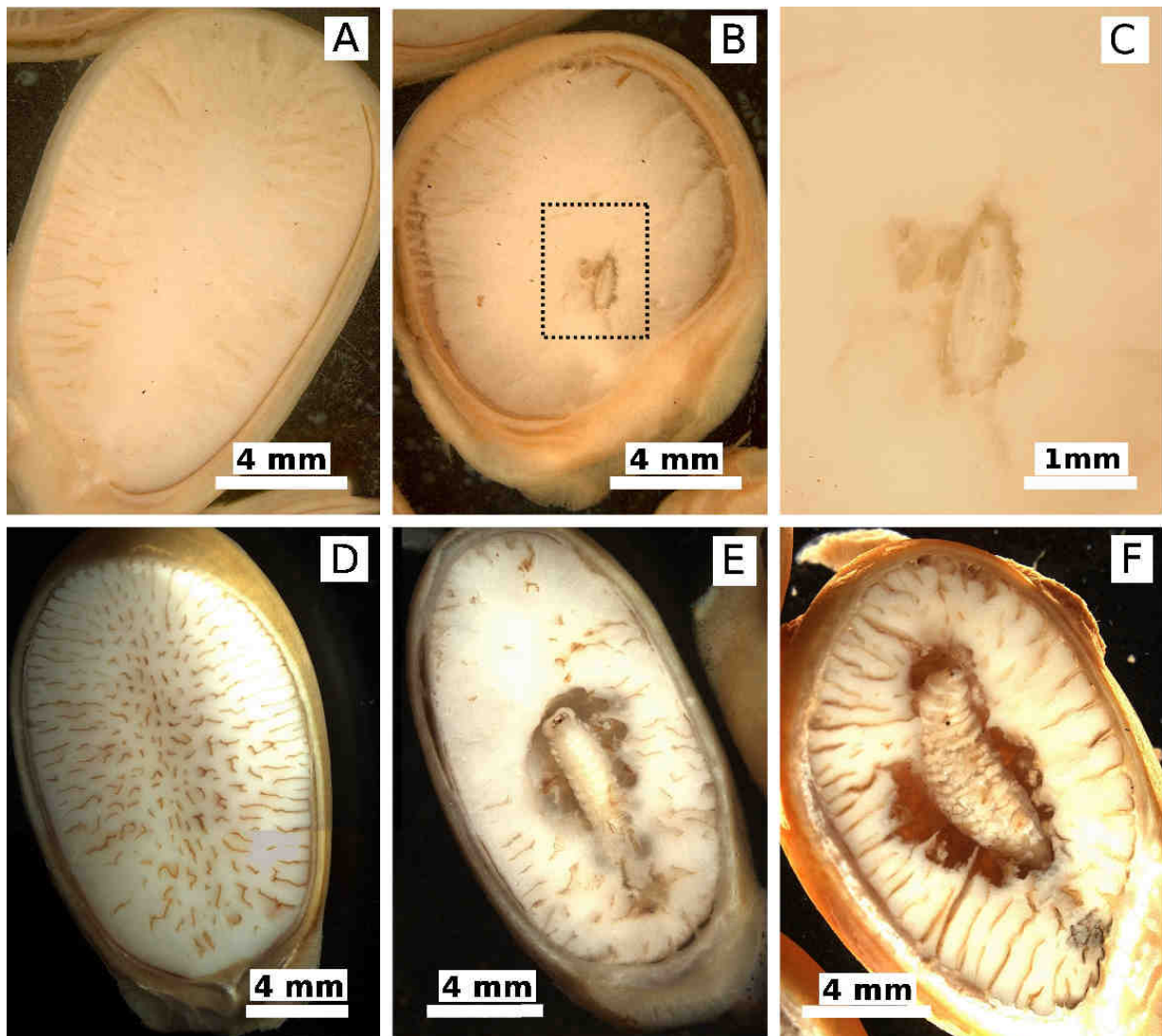


**Figura 25.** Sementes de *A. crassiflora* ovipositada e não ovipositada por *B. pomorum*. A- Semente com segundo instar larval. B- Detalhe da região destacada em A mostrando a larva dentro de endosperma da semente. C- Detalhe larva. D- Semente não parasitada. E- Detalhe da região destacada em D. F- Detalhe dos tecidos em E. *en* = Endosperma. *l* = Larva.

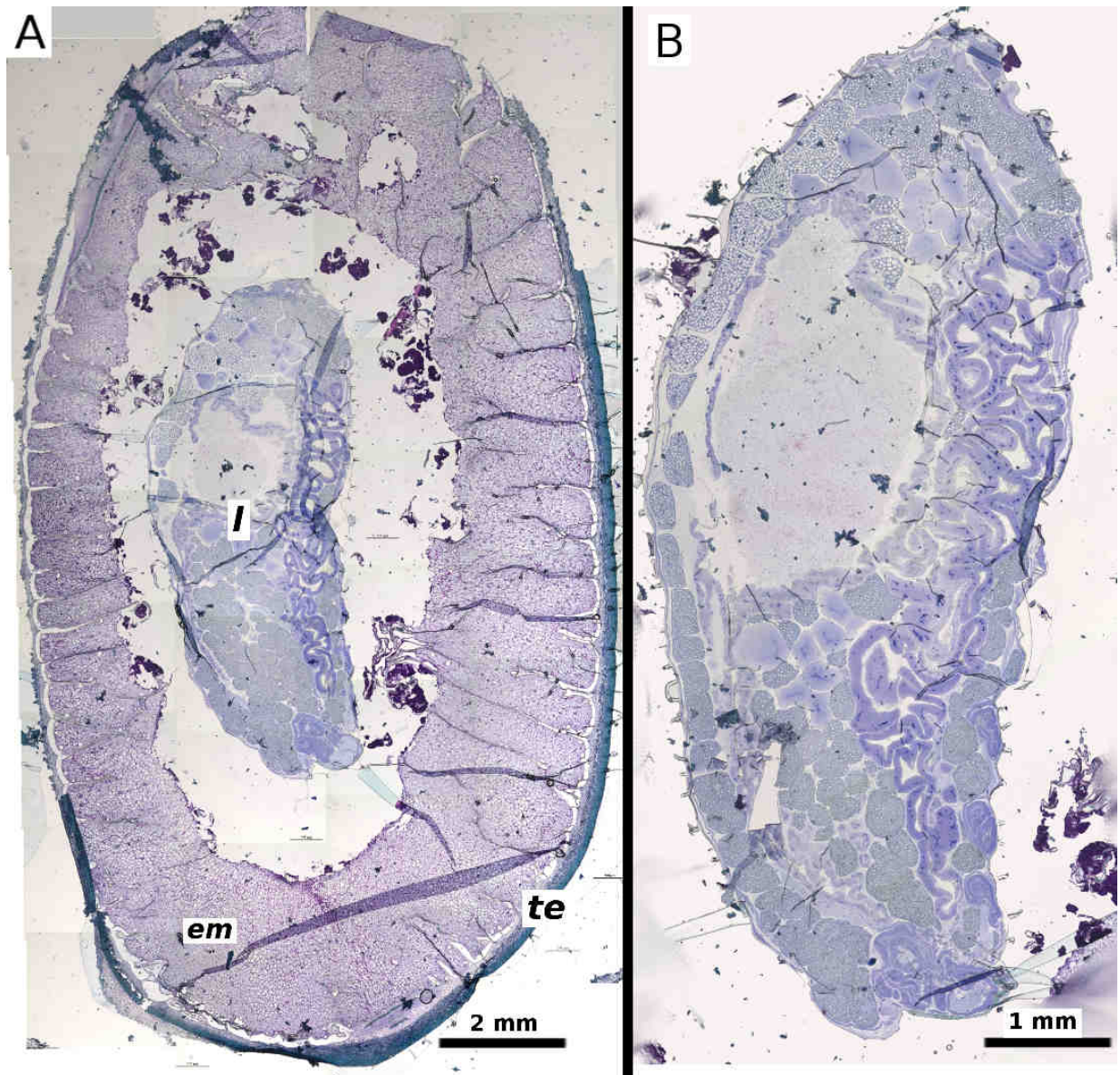


**Figura 26.** Semente de *A. crassiflora* parasitada por *B. pomorum*. A- Semente com larva de segundo estágio. B- Detalhe da região destacada em A com a larva consumindo o embrião da planta. C- Detalhe da larva. *ed* = Endosperma. *ee+mt* = Endotesta + Mesotesta. *em* = Embrião. *l* = Larva. *et* = Exotesta. *l* = Larva. *tg* = Tégmen.





**Figura 27.** Cortes longitudinais de sementes de *A. crassiflora* em estádios avançados de desenvolvimento. A- Semente não parasitada. B- Semente parasitada com larva de segundo estágio. C- Detalhe da região destacada em B com a larva consumindo embrião da planta. D- Semente não parasitada. E- Semente atacada com larva de terceiro estágio. F- Semente atacada com larva de quarto estágio.



**Figura 28.** Semente de *A. crassiflora* com larva de quarto estágio. A- A semente foi quase totalmente consumida pela larva. B- Detalhe da larva. *em* = Embrião. *l* = Larva. *te* = Testa.

#### 4.5 *Megastigmus transvaalensis* – *Schinus terebinthifolius*

##### *Ovo*

A fêmea adulta oviposita em frutos de aproximadamente 10 dias (Figura 29A). O embrião da planta se encontra em forma cordiforme ou no início da fase cotiledonar. O ovipositor atravessa o exocarpo, o mesocarpo, o endocarpo e a testa, deixando uma cicatriz (Figura 29B). O local onde a fêmea insere o ovipositor varia, mas o ovo é depositado sempre entre o tégmen e o endosperma (Figuras 29C-D, 31). O pedúnculo do ovo é fixado à parede interna do tégmen da semente. O ovo de *M. transvaalensis* (comprimento:  $0,228 \pm 0,037$ ; largura:  $0,109 \pm 0,014$ ; N=19 Figura 30A) é elíptico, pontiagudo na extremidade distal e achatado lateralmente, com um pedúnculo de aproximadamente três vezes o seu comprimento. Os ovos podem se encontrar solitários ou em grupos de no máximo quatro por semente.

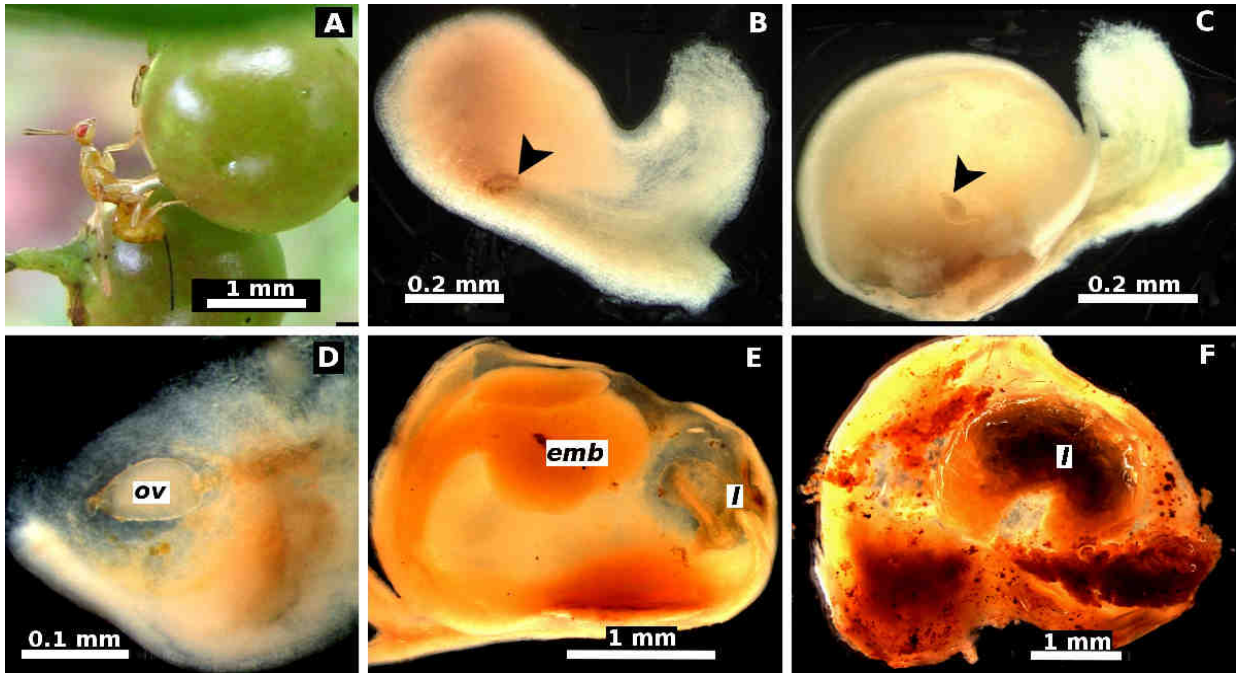
##### *Larvas*

As curvas de crescimento e frequência de tamanho não mostraram resolução suficiente para delimitar estádios larvais por meio do tamanho do corpo (Figuras 32-33). O tempo de desenvolvimento larval de *M. transvaalensis* é de 20 a 25 dias a partir do dia da oviposição. Todos os estádios apresentaram aparelho bucal quitinizado (Figuras 30B-D) e apresentaram muda em duas ocasiões, permitindo a determinação de três instares larvais.

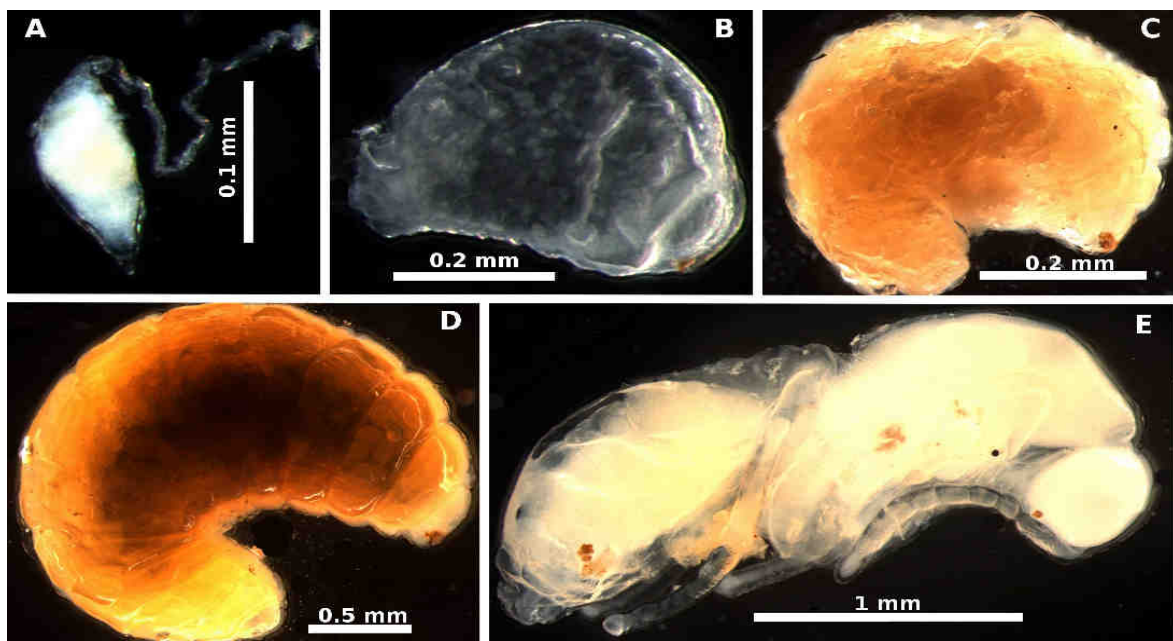
O *primeiro estágio larval* foi observado entre 3 e 5 dias após a oviposição (comprimento:  $0,410 \pm 0,133$ ; largura:  $0,216 \pm 0,085$  mm; N= 20 - Figura 30B). As larvas deste estágio consomem o endosperma, sem, no entanto, comprometer o desenvolvendo da semente (Figuras 34A-B e 34C-D).

O *segundo estágio larval* foi observado entre 5 e 8 dias após a oviposição (comprimento:  $1,012 \pm 0,375$ ; largura:  $0,411 \pm 0,151$  mm; N= 25 - Figura 30C). O embrião da planta se encontra em fase cotiledonar. A larva pode atacar o embrião nesta fase, mas na maioria dos materiais observados a larva estava se alimentando ainda do endosperma (Figuras 29E; 35A-B).

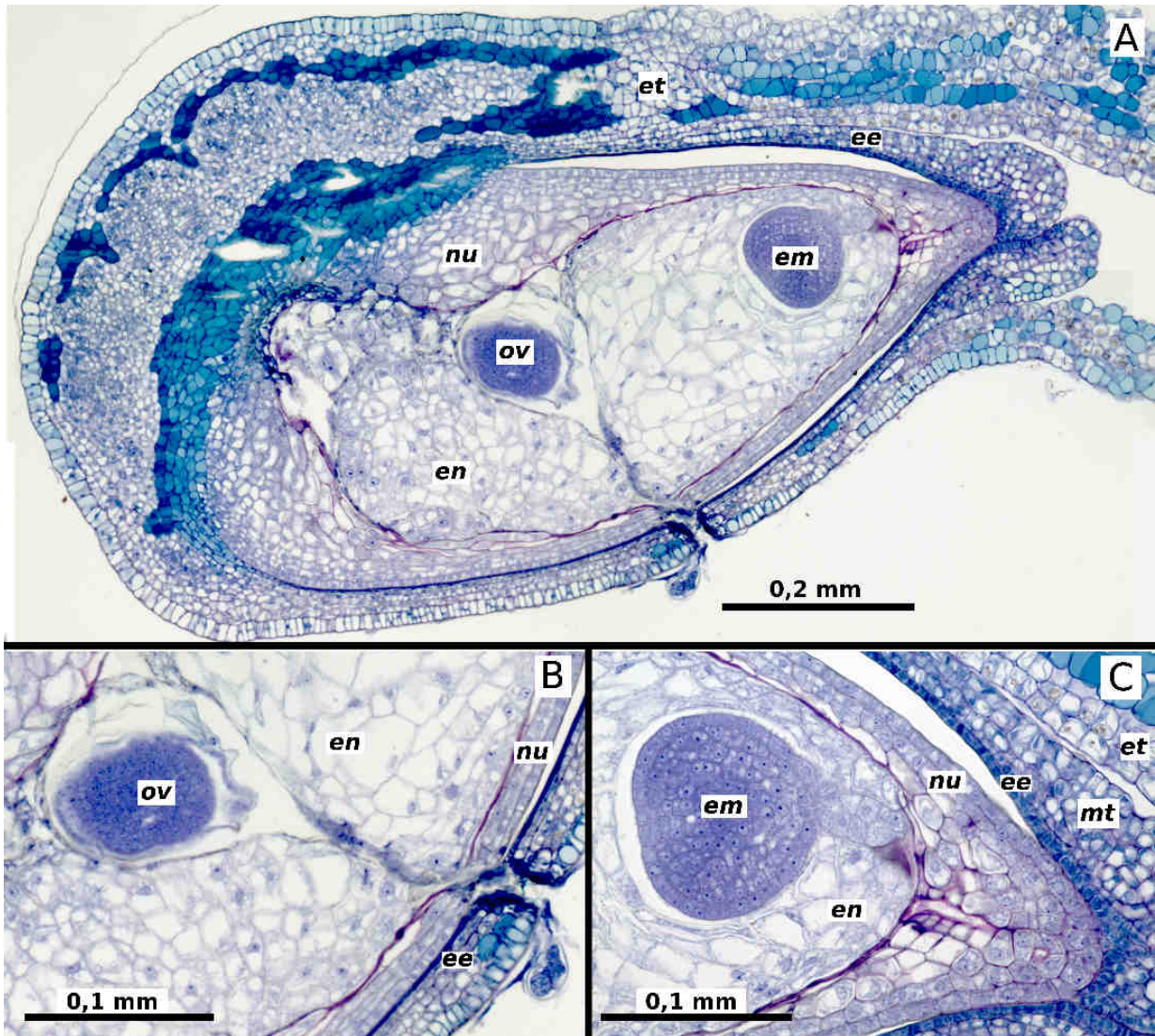
O terceiro e último estágio larval tem 13 segmentos corporais e foi observado entre o 10° e 15° após a oviposição (comprimento:  $3,427 \pm 0,963$ ; largura:  $0,889 \pm 0,218$  mm; N= 40 - Figura 30D). As larvas deste estágio atacam o embrião e, posteriormente, consomem quase toda a semente (Figuras 29F; 35C).



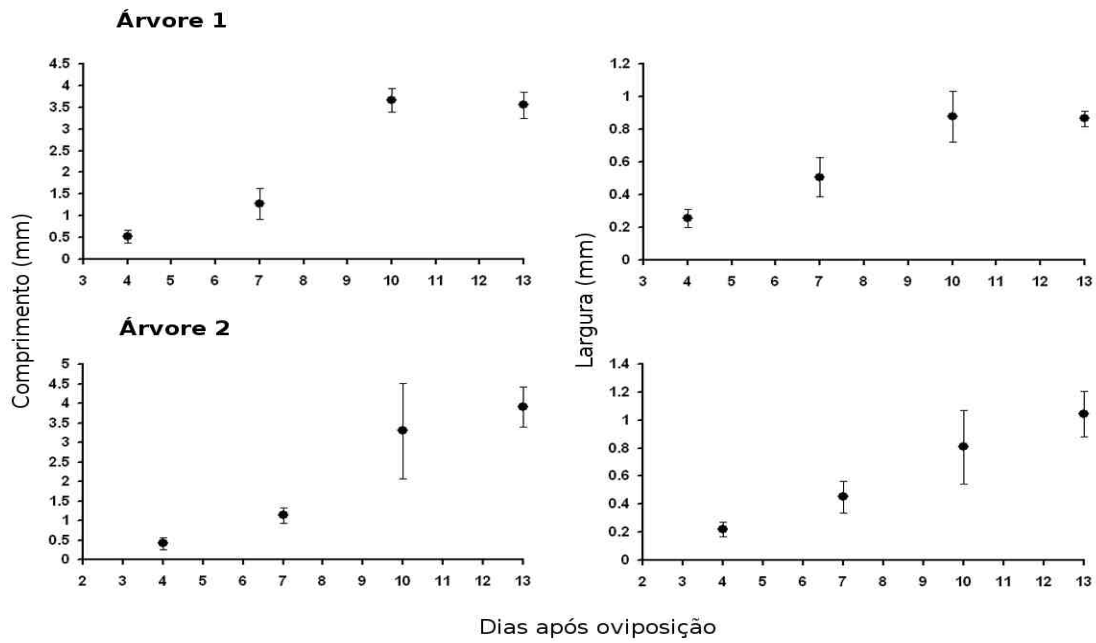
**Figura 29.** A- Fêmea de *M. transvaalensis* ovipositando em fruto de *S. terebinthifolium*. B- Semente com marca de oviposição no tegumento (seta). C- Corte transversal semente com ovo (seta). D- Detalhe do ovo dentro da semente. E- Corte transversal semente com larva de segundo estágio e embrião em fase cotiledonar. E- Fruto predado pela larva de terceiro estágio. *emb* = Embrião. *l* = Larva. *ov* = Ovo.



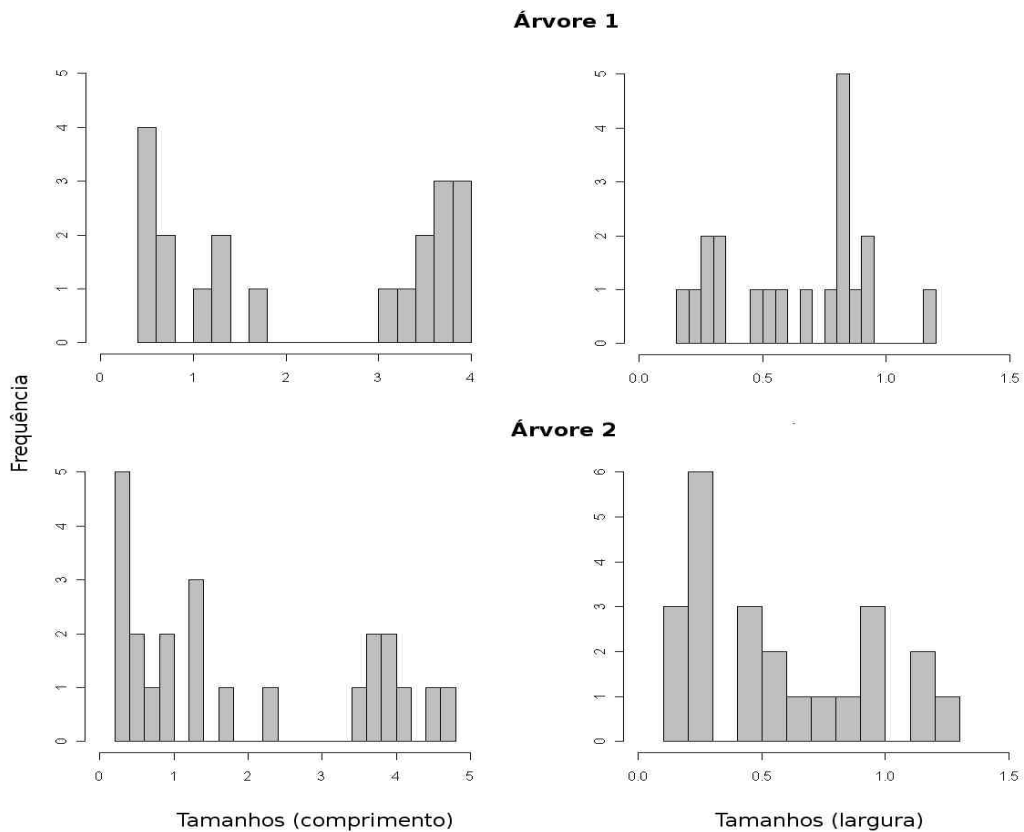
**Figura 30.** Estádios imaturos de *M. transvaalensis*. A- ovo. B- Larva de primeiro estágio. C- Larva de segundo estágio. D- Larva de terceiro estágio. E- Pupa.



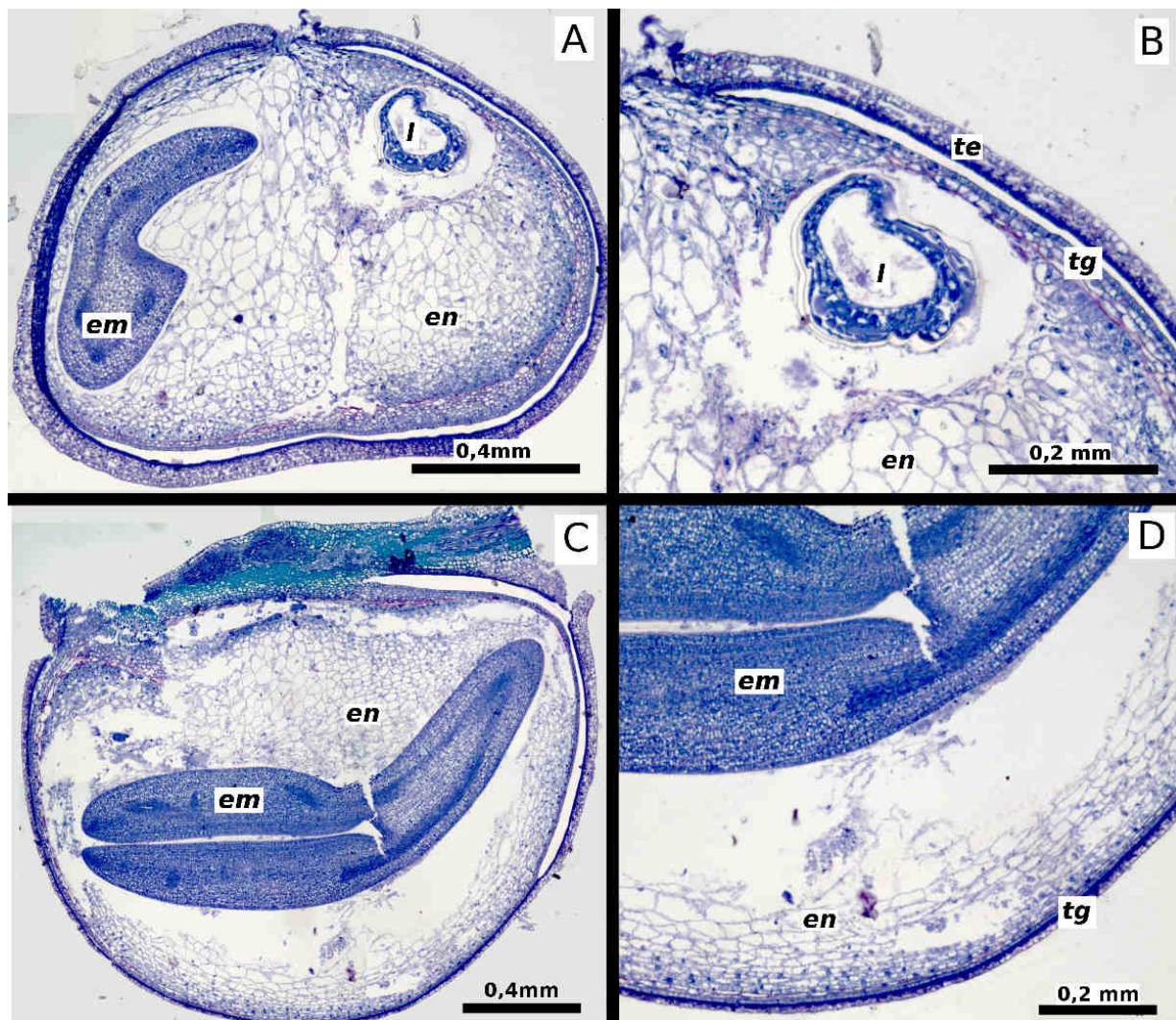
**Figura 31.** Semente de *S. terebinthifolius* recém ovipositada por *M. transvaleensis*. A- Semente com embrião da planta e ovo. B- Detalhe do local do ovo. C- Detalhe do embrião. *ee* = Endotesta. *en* = Endosperma. *em* = Embrião interno. *et* = Exotesta. *mt* = Mesotesta. *nu* = Nucelo. *tg* = Tégmen. *ov* = Ovo.



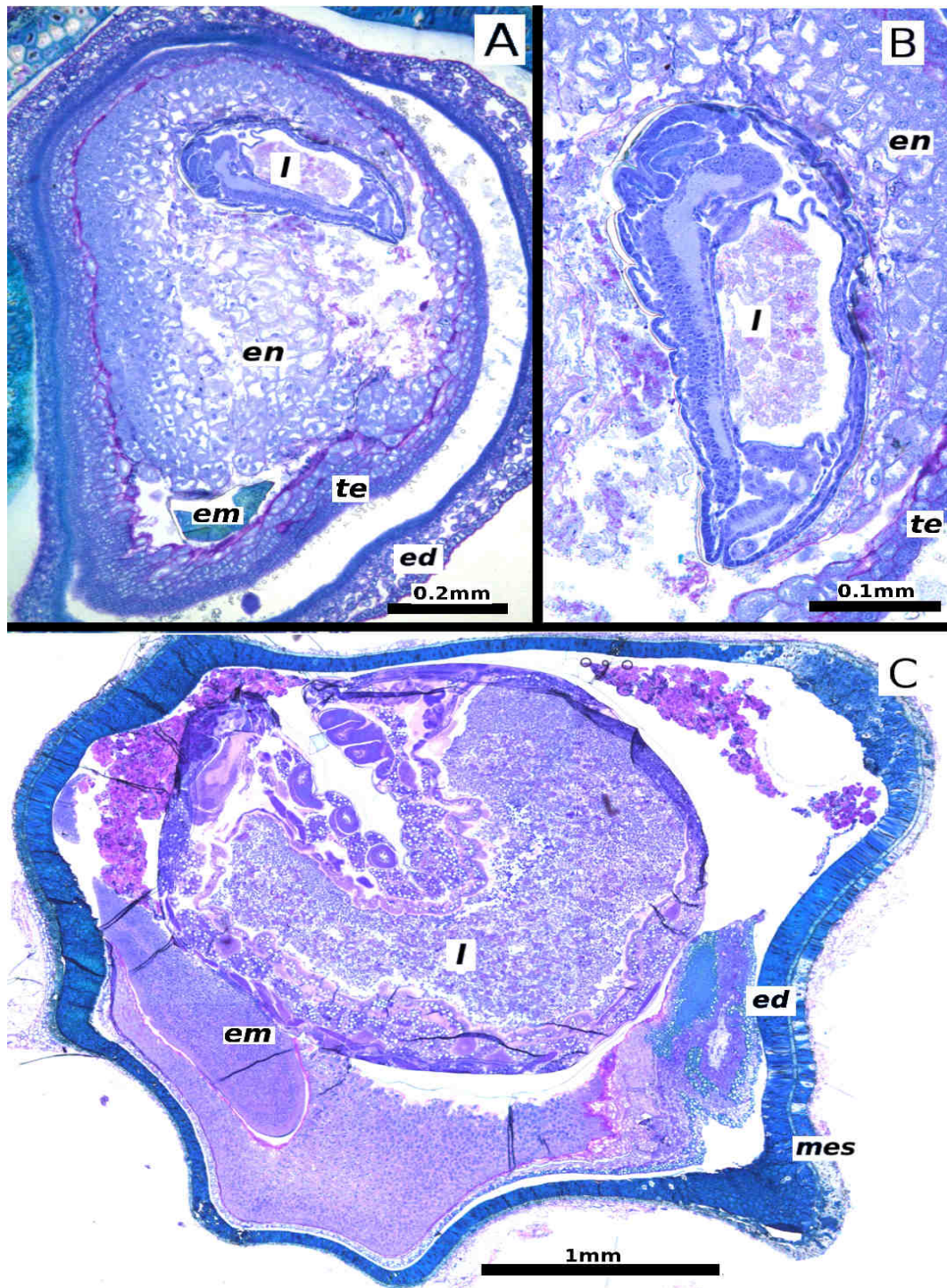
**Figura 32.** Curvas de crescimento larval de *Megastigmus transvaalensis* utilizando o comprimento total e a maior largura do corpo em duas das árvores estudadas.



**Figura 33.** Distribuição de freqüência do comprimento e largura do corpo das larvas de *M. transvaalensis* dissecadas em duas das árvores estudadas.



**Figura 34.** Comparação semente de *S. terebinthifolius* atacada e não atacada por *M. transvaalensis*. A- Semente com larva. B- Detalhe da localização da larva dentro do endosperma. D- Semente normal. E- Detalhe dos tecidos da semente normal. *en* = Endosperma. *em* = Embrião interno. *et* = Exotesta. *l* = Larva. *nu* = Nucelo. *te* = Testa. *tg* = Tégmen.



**Figura 35.** Corte longitudinal de sementes de *S. terebinthifolius* com larvas de *M. transvaalensis*.

A-. Semente com larva de primeiro estágio. B- Detalhe da larva de primeiro estágio consumindo o endosperma da semente. C- Semente com larva de terceiro estágio. o endosperma e o embrião da planta foram consumidos quase totalmente pela larva. *en*= Endosperma. *ed* = Endocarpo. *mes*= Mesodermo. *l* = Larva. *te* = Testa.



## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 *Pegoscapus* sp.- *Ficus citrifolia*

Os resultados obtidos nos experimentos com e sem polinização confirmam que a formação da galha nesta espécie é altamente dependente da polinização e fertilização (Jansen-Gonzalez et al., 2012). As vespas *Pegoscapus* sp. são afetadas pela ausência de polinização em dois níveis: ao nível de inflorescência (sicônio), pelo aumento da probabilidade de aborto do sicônio e ao nível de flor, pelo aumento da mortalidade larval nos sicônios que não abortam.

Ao nível de inflorescência (sicônio), o mecanismo depende da capacidade da planta de abortar as inflorescências não polinizadas. Os experimentos mostraram que essa capacidade pode variar entre indivíduos, com indivíduos que abortam a maioria (indivíduos 1 e 2), ou nenhum (indivíduo 3) dos sicônios não polinizados. Desconhece-se porque esta diferença, mas poderia estar relacionado a variação genética entre indivíduos da população de *F. citrifolia*.

Ao nível de flor, na ausência de polinização, houve uma redução do sucesso reprodutivo da vespa, devido à maior mortalidade larval. As vespas de *Pegoscapus* sp. aparentemente se especializaram em induzir a galha no endosperma (Jansen-Gonzalez et al., 2012). Isso explicaria o menor sucesso do desenvolvimento larval em flores não polinizadas.

A polinização, então, garante recurso à prole e diminui a probabilidade de aborto do sicônio, Assim, estabilidade dessa interação inseto-planta é provavelmente garantida pelo fato da vespa depender da polinização para seu sucesso reprodutivo.

Estes mecanismos contrariam a ideia que a estabilidade do mutualismo é devida a um mecanismo de punição por parte da planta (Jandér e Herre, 2010). O sistema *Pegoscapus* sp.-*F. citrifolia* oferece uma alternativa a esta visão, pois o mecanismo fisiológico natural da planta de abortar flores ou inflorescências que não foram polinizadas, conjugado com a alta dependência da polinização por parte da vespa podem explicar o surgimento e manutenção do mutualismo vespa-figueira.

É muito provável que os mesmos mecanismos observados no sistema *Pegoscapus* sp.-*F. citrifolia* se apliquem para outras espécies de vespas-de-figo com polinização ativa. No entanto, estudos recentes determinaram que a intensidade de aborto de sicônios não polinizados varia entre as espécies de *Ficus* com polinização ativa (Jandér e Herre, 2010). Também, metade

das espécies de vespas de figo são polinizadoras passivas. Diferente da polinização ativa, na qual a fêmea tem certo controle sobre a deposição do pólen, na polinização passiva a deposição do pólen é aleatória e direcionada por especializações morfológicas dos estigmas das flores que favorecem a polinização e fecundação de flores sem ovos. Desta forma, a chance de um ovo ser depositado em uma flor não fertilizada é maior em uma espécie com polinização passiva, o que levaria a selecionar a capacidade da larva se desenvolver em flores não fertilizadas. Isto vai em concordância com estudos que sugerem que a estratégia de formação da galha por parte de espécies com polinização passiva pode ser diferente. Não existem estudos no desenvolvimento em espécies com este tipo de polinização, mas sabe-se que são capazes de galhar flores não polinizadas (Jousselin et al., 2004).

Uma questão aberta à investigação seria definir quais e como as larvas de espécies com polinização passiva exploram os recursos em flores fertilizadas e não fertilizadas. Do ponto de vista evolutivo, a condição ancestral do modo de polinização em *Ficus* (ativa ou passiva) é dúvida (Cruaud et al., 2012) o que acrescenta a necessidade de um estudo em uma espécie com este tipo de polinização para revelar a origem deste mutualismo extremo.

### 5.1 *Idarnes* sp.- *Ficus citrifolia*

As estratégias de exploração de recursos por parte de *Idarnes* sp. apontam três semelhanças principais com as estratégias de *Pegoscapus* sp., polinizadora de *F. citrifolia*. Uma primeira é o estágio de desenvolvimento do sicônio em que oviposita: durante a fase receptiva das flores pistiladas. Uma segunda semelhança é a localização do ovo dentro do ovário da flor pistilada: entre o nucelo e o tegumento interno, na entrada do canal do estilete. Esta posição é exatamente igual ao local onde a polinizadora *Pegoscapus* sp. deposita o ovo (Jansen-González et al., 2012). E finalmente, a forma como o ovipositor é inserido a través do canal do estilete, mesmo com a oviposição realizada pelo lado de fora do figo.

Depositar o ovo no mesmo local da polinizadora e inserir o ovipositor da mesma forma pode estar relacionado com duas adaptações de *Idarnes* sp. Uma primeira estaria relacionada em contornar as defesas da planta imitando o polinizador. Desta forma, qualquer defesa da planta que eliminasse os ovos de *Idarnes* sp. também eliminaria os ovos da espécie polinizadora mutualista.

A inserção do ovipositor através do estilete pode ter relação com evitação de competição

com outras vespas *Idarnes* e com a polinizadora. Durante a oviposição há disrupção do tecido e o estilete fica com uma cicatriz. Por meio da inserção do ovipositor através do estilete a vespa pode avaliar se a flor esta ocupada. Se estiver ocupada, a oviposição não acontece, mas se estiver livre a oviposição acontece e as secreções do aparelho reprodutor da fêmea junto com o dano no tecido servirão para indicar fêmeas subsequentes que a flor esta ocupada. Esta evitação de competição é apoiada pela observação de um único ovo de *Idarnes* por flor em todas a dissecações e cortes histológicos.

O modo de inserção do ovipositor e local do ovo não são necessariamente características compartilhadas com outras espécies galhadoras. *Sycophaga sycomori* é um galhador em *F. sycomorus* que oviposita ao mesmo tempo que o polinizador (Galil et al., 1970). Mesmo ovipositando por dentro figo, *S. sycomori* insere o ovipositor através do pedúnculo da flor e deposita o ovo no interior do nucelo. Espécies cleptoparasitas do gênero *Philotrypesis* em *F. sycomorus* ou *Idarnes* grupo *carne* em *F. citrifolia* ovipositam pelo lado de fora do figo atravessando o pedúnculo floral (Joseph, 1958; Compton et al., 2009; Elias et al 2012). Estas diferenças em modo de oviposição indicam a flexibilidade evolutiva e adaptação a diferentes tipos de vida, permitindo-lhes ocupar vários nichos dentro da complexa comunidade de vespas que se desenvolvem dentro do figo.

Quanto à formação da galha, *Idarnes* sp. apresenta uma estratégia diferente a *Pegoscapus* sp. *Idarnes* apresenta uma forma mais agressiva de galhar, que interrompe os processos embriológicos da planta. Esta interrupção foi evidente, pois foi impossível observar embrião vegetal e endosperma em formação junto com a larva de *Idarnes*. A estratégia para formar a galha em *Idarnes* parece depender da indução rápida do tecido independentemente de se este deriva de fertilização (embrião, endosperma) ou não (nucelo). Esta estratégia permite a *Idarnes* se desenvolver tanto em flores polinizadas quanto não polinizadas. O uso do nucelo como principal fonte para a formação da galha é compartilhado com *Sycophaga sycomori* em *F. sycomorus*. Ambas as espécies são capazes de evitar o aborto de figos ovipositados que não foram polinizados. Dependendo do nucelo como principal substrato para a galha parece ter uma relação com a capacidade de estas espécies de evitar o aborto do figo.

### 5.3 Eulophidae sp.- *Philodendron bipinnatifidum*

O estudo histológico demonstrou que a espécie de Eulophidae sp. é um galhador especializado nos óvulos de *P. bipinnatifidum*. Este fato contrapõe ao relato prévio de predação

de sementes em *P. solimoense* na Guiana Francesa (Gibernau 2002). Eulophidae não depende da fertilização para iniciar a formação da galha e tem a capacidade, em alguns casos, de evitar o aborto da inflorescência quando esta não é polinizada.

No entanto, a polinização apresenta efeitos contraditórios para as vespas de Eulophidae sp. Por um lado, as inflorescências polinizadas apresentam menor probabilidade de ser abortadas, o que é conveniente para a vespa. Por outro lado, a polinização afeta negativamente o número de galhas produzidas quando comparado a inflorescências não polinizadas que foram retidas.

Não foi possível explicar diretamente por que a polinização poderia afetar o desenvolvimento da vespa, mas a resposta pode estar relacionada ao processo de formação da galha. A larva de primeiro instar permanece no espaço locular da flor por mais de 15 dias após a oviposição. Esse tempo é suficiente para ocorrer a fertilização nos óvulos e dar início ao desenvolvimento de sementes. Este desenvolvimento inclui a formação de paredes densas envolvendo esses óvulos fertilizados. Como o seguinte passo na formação da galha é a penetração das paredes do óvulo, as larvas evitarão penetrar ou serão incapazes de penetrar óvulos fertilizados e preferirão penetrar aqueles que não foram fertilizados. Isto explicaria porque na natureza e nos experimentos encontram-se sementes e galhas se desenvolvendo em um mesmo fruto.

Outra explicação poderia estar relacionada a uma possível capacidade das fêmeas ovipositoras de reconhecer as flores fertilizadas. Como vespas fêmeas ovipositam durante a fase receptiva da flor, é difícil saber se estas são capazes de discernir entre flores em que ocorreu fertilização daquelas em que não ocorreu fertilização, pois é desconhecido o tempo necessário desde a polinização até a fertilização do saco embrionário para *Philodendron*. Este intervalo pode durar desde uns poucos minutos até vários dias segundo a espécie (Lestern 2004).

Na natureza, Eulophidae sp. pode encontrar um outro obstáculo quando a polinização acontece. A grande diferença de tamanho entre o besouro polinizador (3-4 cm comprimento) e a vespa (2-3 mm comprimento) e a tendência de receber vários besouros dentro da estrutura da inflorescência, podem impedir a chegada das vespas na porção com flores femininas (mais basal) da inflorescência. As vespas teriam intervalos de tempo muito pequenos limitados antes da chegada ou estadia dos besouros dentro da inflorescência.

No entanto, foram encontradas em ambiente natural inflorescências abortadas (não polinizadas) ou com poucas ou nenhuma semente e quase todas as flores galhadas, sugerindo a ausência de polinizador em alguns períodos da estação de floração de *P. bipinnatifidum*. A manutenção da população de Eulophidae sp. estaria limitada aos pequenos intervalos de tempo em momentos de abundância do polinizador e a intervalos em que o polinizador encontra-se completamente ausente na área.

A irregularidade de chegada de polinizador, combinada com as limitações que impõem a fertilização do saco embrionário e subsequentes formação da sementes podem ter exercido uma importante pressão seletiva para Eulophidae sp. desenvolver uma estratégia de formação de galha independente da polinização.

#### 5.4 *Bephratelloides pomorum* - *Annona crassiflora*

Nesta espécie, a oviposição é realizada quando a semente está em uma fase inicial e o embrião vegetal está em início do desenvolvimento. Nesta fase a qualidade nutricional da semente é menor, pois o endosperma está em início de formação. Assim, a larva de *B. pomorum* seria selecionada para se alimentar inicialmente da semente sem afetar os processos embriológicos. O ataque por parte da larva começa somente quando o embrião vegetal ocupa a maior porção da cavidade seminal e a semente atinge aproximadamente o seu tamanho final. De fato, o primeiro estágio larval tem duração mais longa, possivelmente a espera dos processos de formação e crescimento da semente ocorrerem.

A estratégia de exploração de recursos de *B. pomorum* é encontrada em outras espécies de Eurytomidae. O gênero *Bruchophagus* preda sementes de varias leguminosas de importância econômica (Batiste, 1967). De forma semelhante a *B. pomorum*, as fêmeas de *Br. kolobovae* preferem ovipositar em sementes de *Lotus corniculatus* em um estágio intermediário de desenvolvimento e o consumo da semente ocorre somente em fases mais avançadas do desenvolvimento (Batiste, 1967).

*Bephratelloides pomorum* não é especialista em relação ao hospedeiro. Esta espécie é reportada em *A. muricata* e *A. squamosa*, o que indica que a estratégia de predação permite à espécie de vespa explorar várias espécies do gênero *Annona*. O mesmo caso acontece com espécies de *Bruchophagus*: *Br. kolobovae* explora sementes de *Lotus corniculatus* e *L. tenuis*, e *Br. rodii* pode atacar *Medicago sativa* e *M. hispida* (Batiste, 1967).

Do ponto de vista evolutivo não existem trabalhos relacionando espécies de *Bephratelloides* com as de *Annona* nem de *Bruchophagus* com espécies de leguminosas. Seria importante ver o quão específicas são outras espécies destes gêneros e se fatores ecológicos ou de distribuição influíram na seleção de hospedeiro.

#### 5.5 *Megastigmus transvaalensis* – *Schinus terebinthifolius*

Esta espécie apresenta uma estratégia de exploração muito similar a de *B. pomorum*. A oviposição é feita em uma fase de desenvolvimento inicial da semente, a larva consome tecido sem afetar as etapas iniciais da embriogênese e, finalmente, consome todos os tecidos quando o embrião vegetal já está formado. Este padrão é observado em *M. nigrovariegatus* que preda sementes de *Rosa rugosa* (Rosaceae) na América do Norte (Milliron, 1949).

*Megastigmus transvaalensis* é uma espécie originária da África, onde preda sementes de plantas do gênero *Rhus* (Anacardiaceae) (Sheffer e Grissell, 2003). No entanto, não há conhecimento da biologia da espécie dentro de sua área nativa. Provavelmente o processo encontrado em *S. terebinthifolius* não difira do que acontece em *Rhus*, e talvez seja a razão pela qual *M. transvaalensis* tenha se adaptado a um novo hospedeiro na América.

A estratégia de predação de sementes adotada por *M. transvaalensis* poderia ser considerada de generalista, pois parece ser capaz de preda sementes de *S. terebinthifolius* na América, e *S. molle* e *Rhus* sp. na África (Sheffer e Grissell, 2003). No entanto, dentro do campus da USP Ribeirão Preto não foi encontrado *M. transvaalensis* atacando sementes de *Schinus molle*, uma espécie ornamental (obs. Pess.). Estudos futuros poderiam revelar porque *M. transvaalensis* foi capaz de mudar de hospedeiro entre gêneros e não entre espécies de um mesmo gênero nesta região. Isto da ideia de que a forma de explorar o recurso por parte da larva não é o único determinante na capacidade de colonizar novas plantas hospedeiras por parte de insetos fitófagos. Outros fatores como seleção de hospedeiro por parte da fêmea, variação genética da população de vespas e distribuição geográfica de potenciais plantas hospedeiras podem influir na troca de hospedeiros (Bernays e Chapman, 1994).

Da mesma forma que com *Bephratelloides*, não existem estudos relacionando planta e hospedeiro no caso do gênero *Megastigmus*. O gênero é cosmopolita e ataca sementes de angiospermas e gimnospermas, o que o torna um grupo de grande interesse para um estudo comparativo a futuro.

### *5.6 Exploração de tecido reprodutivo em Angiospermas por Chalcidoidea*

O desenvolvimento larval das cinco espécies estudadas revelou três fatores determinantes para a exploração de sementes em Chalcidoidea e que, provavelmente são válidos para outros insetos holometábolos. O primeiro fator é a polinização e fertilização na flor pistilada, processos que levam a formação da semente e aumentam a retenção das estruturas reprodutivas (ovários). O segundo fator está relacionado aos processos ontogenéticos dentro dos ovários da flor. E o terceiro, relacionado aos anteriores, é o momento em que a fêmea adulta oviposita. Os recursos explorados, assim como as estratégias utilizadas pela larva dependem destes três fatores.

Características na fêmea (i.e. escolha do momento de oviposição, escolha de hospedeiro, modo de oviposição, etc.) definirão os recursos com os que a larva vai se encontrar uma vez eclodida. Quando a oviposição é realizada em sementes em fase mais avançada de desenvolvimento, a larva terá acesso prontamente à maioria dos recursos de uma semente madura. Assim, a seleção atuará de forma mais intensa nas fêmeas adultas, em favor da capacidade de discriminar sementes com melhores características para o desenvolvimento das larvas. Dentro da semente, haveria menor pressão seletiva para as larvas desenvolverem estratégias complexas e elaboradas, o que explicaria o consumo indiscriminado dos tecidos da semente nestes casos (Desouhant, 1998; Ostergard 2007).

Em Hymenoptera, Diptera e alguns Lepidoptera a estratégia envolve a oviposição em estádios preliminares à formação da semente (Milliron, 1949; Brody et al., 1992; Pereira et al., 1997; Holland e Fleming 1999). O recurso nestes casos está em forma potencial, pois os tecidos não estão formados e dependem de processos interdependentes e sequenciais. Isto exerceria pressões seletivas que promoveriam o surgimento de estratégias complexas na larva e na fêmea adulta, que permitiriam se ajustar aos processos ontogenéticos das estruturas reprodutivas da planta e explorar os recursos de forma mais eficiente. O presente estudo demonstra que nestes casos a larva não consome indiscriminadamente os tecidos dentro da semente, e sim induz e modifica o tecido circundante a seu favor.

As estratégias dentre os sistemas planta-inseto estudados neste trabalho envolvem ataque direto à semente ou óvulos da planta e podem ser reunidas em três grupos principais: 1- fêmeas adultas que ovipositam e polinizam no momento da receptividade do gineceu,

promovendo a formação da semente até um estágio inicial, e que depois é alterado em favor do inseto (*Pegoscapus* sp.); 2- fêmeas adultas que ovipositam no momento da receptividade do gineceu, com polinização e embriogênese ainda por acontecer e capazes de galhar os óvulos da planta independentemente da fertilização acontecer (*Idarnes* sp. e Eulophidae sp.); 3- fêmeas que ovipositam em frutos e sementes em processo de formação. Neste caso, a polinização já aconteceu, diminuindo o risco de aborto, e os recursos explorados provêm da semente já em processo de formação (*Megastigmus transvaalensis* e *Bephratelloides* sp.). Cada tipo oferece cenários diferentes e exige estratégias variadas refletidas nos sistemas estudados.

Em *Pegoscapus* sp., a fêmea adulta desenvolveu características relacionadas à polinização. A vantagem adaptativa, neste caso, está ligada ao fato do predador de sementes ser ao mesmo tempo polinizador da planta hospedeira, uma estratégia surgida em pelo menos 7 linhagens de insetos (Dufay e Anstett, 2003) e única dentro da superfamília Chalcidoidea (Gibson, 2006). Polinizando, a fêmea adulta garante recursos às larvas e diminui a probabilidade de aborto do figo. Assim., a larva desenvolveu estratégias de exploração intimamente ligadas aos processos iniciais de embriogênese na planta (Jansen et al., 2012). Quando a larva de *Pegoscapus* sp. se desenvolve em flores não fertilizadas, isto afeta seu desenvolvimento e aumenta a mortalidade, mesmo quando o figo é retido. Os fatores limitantes de polinização e fertilização são superados com a polinização feita pelo adulto e com adaptações aos processos embriológicos da semente na larva. Este conjunto de estratégias seguidas por *Pegoscapus* sp. podem ser compartilhadas com outros sistemas mutualísticos que combinam polinização pela fêmea adulta e oviposição da flor polinizada em outras ordens de holometábola onde a biologia larval é desconhecida em detalhe (Brody, 1992; Pellmyr, 1989; Thompson e Pellmyr, 1992; Holland e Fleming 1999; Pellmyr, 2003; Jansen-Gonzalez et al., 2012).

De maneira alternativa, fêmeas das outras quatro espécies estudadas: *Idarnes* sp., Eulophidae sp., *M. transvaalensis* e *Bephratelloides* sp. não polinizam. A polinização é realizada por outros agentes, o que resulta em pressões seletivas diferentes e, por tanto, estratégias de oviposição e exploração de recursos diferentes.

Indivíduos das espécies *Idarnes* sp., Eulophidae sp. exibem um conjunto de adaptações que permitem às larvas explorar recursos independentemente da polinização. De acordo com os resultados obtidos, essas vespas ovipositam durante a fase receptiva e são capazes de galhar os tecidos vegetais e evitar, em alguns casos, o aborto da inflorescência na ausência de



polinização. São desconhecidos os mecanismos pelos quais o aborto da inflorescência ovipositada é evitado, mas poderiam estar relacionados com substâncias secretadas pelas fêmeas adultas e larvas em desenvolvimento (Milles, 1968; Raman *et al.*, 2005). Estas espécies dependem indiretamente da polinização, pois esta diminui a probabilidade de aborto da inflorescência, mas desenvolveram estratégias ao nível de larva que lhes permitem independer dos processos embriológicos subsequentes à fertilização do óvulo de planta.

Em insetos galhadores, é bem documentada a injeção ou secreção de substâncias na planta que favorecem o crescimento dos tecidos ao redor do inseto em desenvolvimento. Dentre as substâncias encontram-se promotores de fitorreguladores, como auxinas e giberelinas, relacionadas com a divisão celular e crescimento de tecidos (Elzen, 1983; Dorchin *et al.*, 2009). Em Hymenoptera, desconhecem-se com detalhe o tipo de substâncias que espécies galhadoras injetam nos tecidos plantas hospedeiras, mas seus efeitos não diferem dos encontrados em galhadores de outras ordens (Raman, 2005). *Idarnes* sp. e Eulophidae sp. devem fazer uso de substâncias similares que permitem alterar a conformação dos tecidos. Para o caso de *Idarnes* sp., o fato da densidade de galhas aumentar a probabilidade de retenção do figo sugere um efeito acumulativo das possíveis substâncias secretadas.

As espécies *Megastigmus transvaalensis* e *Bephratelloides pomorum* apresentam convergências em suas estratégias, demonstrando que espécies de grupos distantes filogeneticamente (*M. transvaalensis* em Torymidae e *B. pomorum* em Eurytomidae) responderam a pressões seletivas similares em espécies de Angiospermas também afastadas filogeneticamente (*Schinus terebinthifolius* em Anacardiaceae e *Annona crassiflora* em Annonaceae). O fato destas duas espécies de vespas serem capazes de infestar sementes de outras espécies de plantas dentro do mesmo gênero ou família de sua planta hospedeira sugere ainda que o conjunto de estratégias utilizadas favorece o generalismo. Esta convergência poderia estar presente em outras espécies de *Megastigmus* (Torymidae), *Bruchophagus* e *Eurytoma* (Eurytomidae) onde as fêmeas também ovipositam em frutos em estádios intermediários de desenvolvimento (Batiste, 1967; Bugbee 1941, 1971; Huffman, 2002; Milliron, 1949).

Enquanto *Idarnes* sp. e Eulophidae sp. agem como galhadores especializados em óvulos de plantas, *Pegoscapus* sp., *B. pomorum*, e *M. transvaalensis* utilizam a semente como recurso com uma estratégia equivalente à adotada por alguns insetos parasitoides (Vinson e Iwantsch, 1980; Bekage e Gelman, 2004). De fato, pode ser feito um paralelo entre dois tipos de

estratégias seguidas por estes insetos e as seguidas por *Pegoscapus* sp., *B. pomorum*, e *M. transvaalensis*: Uma primeira está relacionada à capacidade de redirecionar o desenvolvimento do hospedeiro desde o início, similar ao que acontece no sistema *Pegoscapus* sp. - *Ficus citrifolia*. *Pegoscapus* sp. permite que processos embriológicos normais aconteçam até a fase em que o endosperma começa a se celularizar. A partir daí, o embrião da planta é eliminado e a galha é induzida a partir do endosperma, com acúmulo de substâncias nutritivas em células hipertrofiadas. Esta estratégia permite manter a semente em seus processos iniciais de formação para depois alterá-la em benefício do hospedeiro.

Uma segunda estratégia não redireciona o desenvolvimento do hospedeiro e permite seu desenvolvimento normal; o ataque foca-se nas últimas fases de desenvolvimento, quando o hospedeiro ganhou tamanho e valor nutricional suficiente. Esta estratégia é similar à encontrada nos sistemas *M. transvaalensis* – *S. terebinthifolius* e *B. pomorum* – *A. crassifolia*. As larvas permanecem dentro do endosperma sem ser detetadas, e uma vez a semente atinge a maturidade suficiente, a larva consome a maioria do que se encontra em seu interior. Esta estratégia mantém a semente com o mínimo dano possível, permitindo os processos embriológicos continuarem, para depois consumir a semente madura.

As estratégias de consumo de cada uma das espécies estudadas apresenta uma relação importante com o momento de oviposição da fêmea. A oviposição é realizada em estádios diferentes de desenvolvimento das estruturas reprodutivas. A oviposição durante a fase receptiva do gineceu, como fazem *Pegoscapus* sp. *Idarnes* sp. e Eulophidae sp., apresenta duas vantagens. A primeira, a fêmea encontra estruturas fáceis de penetrar, como flores e ovários pouco rígidos. A segunda, a larva eclode envolta por tecidos potencialmente favoráveis à manipulação para a formação da galha. Sabe-se que insetos galhadores tendem a ovipositar em partes da planta que facilmente manipuláveis, com potencial de crescimento chamadas de locais de reação (Weis et al., 1988). Assim, caules e folhas verdes, e meristemas apicais são locais comumente atacados por galhadores. No caso de *Pegoscapus* sp. *Idarnes* sp. e Eulophidae sp. atacam óvulos e sementes, os quais tem um alto potencial fisiológico e de crescimento.

*Megastigmus transvaalensis* e *Bephratelloides pomorum*, por outro lado, ovipositam em sementes, e a oviposição é realizada em um tempo preciso em que a embriogênese da semente está em andamento e envoltórios do fruto e semente ainda não sofreram acúmulo de estruturas ou substâncias que conferem resistência física. Barreiras físicas em fases finais do

desenvolvimento do fruto/semente poderia explicar porquê estas espécies não ovipositam em fases mais avançadas, nas quais a semente já está formada. A larva então, ao contrário das outras espécies estudadas, não manipulam o hospedeiro alterando seu desenvolvimento. A manipulação consiste em evitar ser detectados pela planta e consumir os tecidos sem interferir na embriogênese da planta. A estratégia larval permite-lhe aproveitar os recursos acumulados pela semente graças a sua qualidade natural de “dreno fisiológico” sem necessidade de indução alguma.

Em conclusão, a fertilização da planta pode não ser um pré-requisito para explorar recursos associados aos tecidos reprodutivos de Angiospermas. No entanto, os processos derivados desta podem ter um impacto considerável nas estratégias seguidas por vespa adulta e larva.

As estratégias estudadas são muito variadas e englobam combinações de estratégias de vida, tanto do inseto adulto quanto da larva. Estas estratégias permitem contornar as restrições impostas pelos processos ontogenéticos da semente. Isto está de acordo com a ideia de que grande parte do sucesso de insetos holometábolos está na divisão de ambiente entre larva e adulto, o que tem levado a regimes de seleção diferenciados para cada nível (Truman e Riddiford, 1999). É esta divisão que permite uma maior flexibilidade e adaptação às mudanças do ambiente em que cada estágio (ovo, larva, adulto) se desenvolve.

Alguns sistemas estudados não podem ser chamados como predadores de sementes, pois são galhadores especializados, com processos independentes da fertilização do saco embrionário e posterior embriogênese da planta. Outros são sistemas de predação de sementes que refletem a importância da ontogenia da semente como fonte de pressão seletiva. Os processos ontogenéticos do fruto e da semente compartilhados por muitas Angiospermas puderam dar origem a soluções convergentes de exploração de recursos. Estes sistemas apoiam a hipótese que os processos embriológicos da planta influenciaram o surgimento de estratégias de predação de sementes em alguns grupos de Chalcidoidea. Estudos futuros poderão confirmar se a convergência encontrada em *M. transvaalensis* e *B. pomorum* se estende a outros grupos dentro de Chalcidoidea ou até outras ordens de Insecta.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Batiste WC. Biology of the trefoil seed chalcid, *Bruchophagus kolobovae* Fedoseeva (Hymenoptera; Eurytomidae). *Hilgardia*. 1967; 38(12):427–69.
- Beckage NE, Gelman DB. Wasp parasitoid disruption of host development: implications for new biologically based strategies for insect control. *Annu. Rev. Entomol.* 2004; 49:299–330.
- Bernays EA, Chapman RF. *Host-Plant Selection by Phytophagous Insects*. Springer; 1994.
- Braga-Filho JL, Santos-Veloso VR, Veloso-Naves R, do Nascimento JL, Chaves L.J. Danos causados por insetos em frutos e sementes de araticum (*Annona crassiflora* Mart. 1841) no cerrado de Goiás. *Biosc. J.* 2007; 23: 21–28.
- Brody AK. Oviposition choice by a pre-dispersal seed predator (*Hylemya* sp.). A positive association between female choice and fruit set. *Oecologia*. 1992; 91: 63–67.
- Bugbee RE. A new species of the *Eurytoma rhois* complex from the seeds of *Schmaltzia* (*Rhus trilobata*). (Eurytomidae). *J. Kans. Entomol. Soc.* 1941; 14(3):98–102.
- Bugbee RE. A new species of Arizona *Eurytoma* phytophagous in *Ceanothus greggii* seeds. *J. Kans. Entomol. Soc.* 1971;44(1):111–2.
- Cesario, LF, Gaglianone MC. Biología floral e fenologia reprodutiva de *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae) em Restinga do Norte Fulmínense. *Acta Bot. Bras.* 2008; 22: 828–833.
- Compton SG, Van Noort S, Mcleish M, Deeble M, Stone V. Sneaky African fig wasps that oviposit through holes drilled by other species. *Afr. Nat. Hist.* 2009; 5:9–5.
- Cruaud A, Rønsted N, Chantarasuwan B, Chou LS, Clement WL, Couloux A, et al. An extreme case of plant-insect codiversification: figs and fig-pollinating wasps. *Syst. Biol.* 2012; 61(6):1029–47.
- Cuda, JP, Wheeler GS, Habeck DH. Brazilian pepper tree seed wasp *Megastigmus transvaalensis* (Hymenoptera: Torymidae). Florida Cooperative Extension Service, I F A S, University of Florida. 2002. 5 pp.
- Daly, HV. Insect morphometrics. *Ann. Rev. Entomol.* 1985; 30: 415–438.
- Desouhant E. Selection of fruits for oviposition by the chestnut weevil, *Curculio elephas*. *Entomol. Exp. Appl.* 1998; 86(1):71–8.
- Dorchin N, Hoffmann JH, Stirk WA, Novák O, Strnad M, Van Staden J. Sexually dimorphic

- gall structures correspond to differential phytohormone contents in male and female wasp larvae. *Physiol. Entomol.* 2009; 34(4):359–69.
- Dufay, M, Anstett M–C. Conflicts between plants and pollinators that reproduce within inflorescences: evolutionary variations on a theme. *Oikos* 2003; 100, 3–14.
- Elias, LG. *Estratégias de utilização de recursos em vespas parasitas no mutualismo figueiras – vespas de figo*. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2008; 42pp.
- Elias, LG, Menezes, AO, Pereira RA.S. Colonization sequence of non-pollinating fig wasps associated with *Ficus citrifolia* in Brazil. *Symbiosis* 2008; 45: 107–111.
- Elias LG, Teixeira SP, Kjellberg F, Augusto Santinelo Pereira R. Diversification in the use of resources by *Idarnes* species: bypassing functional constraints in the fig–fig wasp interaction. *Biol. J. Linn. Soc.* 2012; 106(1):114–22.
- Elzen G. Cytokinins and insect galls. *Comp. Biochem. Physiol. A Physiol.* 1983; 76(1):17–9.
- Fenner M, Thompson K. *The Ecology of Seeds*. Cambridge University Press. 2005; 250 pp.
- Ferrière, Ch. Note sur deux nouveaux chalcidiens phytophages du Paraguay. *Annales de la Société Entomologique de France*. 1924; 93:1–21.
- Fragoso, FP. *A entomofauna visitante floral de espécies arbóreas da Floresta da USP-RP, área de restauração de Mata Estacional Semidecidual*. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2009; 78pp.
- Galil J, Eisikowitch D. Studies on mutualistic symbiosis between syconia and sycophilous wasps in monoecious figs. *New Phytol.* 1971; 70: 773–787.
- Galil J, Dulberger R, Rosen D. The effects of *Sycophaga sycomori* L. on the structure and development of the synconia in *Ficus sycomorus* L. *New Phytol.* 1970; 69(1):103–11.
- Gates MW, Hanson PE. Familia Eurytomidae. Em: *Hymenoptera de la Región Neotropical*. Hanson PE, Gauld ID (eds.). *Memoirs of the American Entomological Institute*, vol. 77. 2006; pp. 380–387.
- Gerrits, PO. *The application of glycol methacrylate in histotechnology; some fundamental principles*. Department of Anatomy and Embryology. State University Groningen, Netherlands. 1991; 160pp.
- Gibernau M, Barabe D, Cerdan P, e Dejean A. Beetle pollination of *Philodendron solimoesense* (Araceae) in French Guiana. *Int. J. Plant Sci.* 1999; 160: 1135–1143.
- Gibernau M, Albre J, Dejean A, Barabé D. Seed predation in *Philodendron solimoesense*

- (Araceae) by chalcid wasps (Hymenoptera). *Int. J. Plant Sci.* 2002; 163: 1017–1023.
- Gibson G. Capítulo 63: Superfamilia Chalcidoidea. Em: *Introducción a los Hymenoptera de la Región Neotropical*. Fernández F, Sharkey MJ. (eds.). *Sociedad Colombiana de Entomología y Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C.* 2006; pp. 629–645.
- Gottsberger G. Pollination and evolution in Neotropical Annonaceae. *Plant Species Biology*. 1999; 14: 143–152.
- Gottsberger G, Amaral Jr. A. Pollination strategies in Brazilian *Philodendron* species. *Ber. Deutsch. Bot. Ges. Bd.* 1984; 97: 391–410.
- Gottsberger G, Gotsberger-Silberbauer I. Olfactory and visual attraction of *Erioscelis emarginata* (Cyclocephalini, Dynastinae) to the inflorescences of *Philodendron selloum* (Araceae). *Biotropica* 1991; 23(1): 23–28.
- Grissell EE, Foster MS. A new *Bephratelloides* (Hymenoptera: Eurytomidae) from seeds of *Cymbopetalum* (Annonaceae) in Mexico. *Proc. Entomol. Soc. Wash.* 1996; 98: 256–263.
- Hanson PE. Familia Torymidae. Em: *Hymenoptera de la Región Neotropical*. Hanson PE, Gauld ID (eds.). *Memoirs of the American Entomological Institute*, vol. 77. 2006; pp. 431–437.
- Holland JN, Fleming TH. Mutualistic Interactions between *Upiga virescens* (Pyralidae), a Pollinating Seed-Consumer, and *Lophocereus Schottii* (Cactaceae). *Ecology*. 1999;80(6):2074–84.
- Huffman DW. A seed chalcid (*Eurytoma squamosa* Bugbee) parasitizes buckbush (*Ceanothus fendleri* Gray) seed in a ponderosa pine forest of Arizona. *West. North Am. Nat.* 2002;62(4):474–8.
- Jansen-Gonzalez, S. *Biología Larval de Pegoscapus tonduzi* (Hymenoptera, Chalcidoidea), polinizador de *Ficus citrifolia* (Moraceae). Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2009; 41pp.
- Jansen-González S, Teixeira S de, Pereira RAS. Mutualism from the inside: coordinated development of plant and insect in an active pollinating fig wasp. *Arthropod-Plant Interactions*. 2012; 6(4):1–9.
- Johri BM, Konar RN. The floral morphology and embryology of *Ficus religiosa* Linn. *Phytomorphology*. 1956; 6: 97–111.
- Joseph K. Recherches sur les Chalcidiens *Blastophaga psenes* (L.) et *Philothrypesis caricae* (L.), du figuier (*Ficus carica* L.). *Ann. Sci. Nat. Zool.* 1958; 11:197–260.

- Joseph M. Morphology, biology and behaviour of *Ceratosolen fusciceps* Mayr and its relationship with other fig wasp breeding in the receptacles of *Ficus racemosa* L. Tese de Doutorado. University of Calicut, Kerala, India. 1984.; 297 p.
- Jousselin E, Hossaert-McKey M, Herre EA, Kjellberg F. Why do fig wasps actively pollinate monoecious figs? *Oecologia*. 2003; 134: 381–387.
- Jousselin E, Kjellberg F, Herre EA. Flower Specialization in a Passively Pollinated Monoecious Fig: A Question of Style and Stigma? *Int. J. Plant Sci.* 2004; 165(4):587–93.
- Labandeira CC. Insect mouthparts: Ascertaining the paleobiology of insect feeding strategies. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 1997; 28: 153–193.
- Labandeira C. The origin of herbivory on land: Initial patterns of plant tissue consumption by arthropods. *Insect Sci.* 2007; 14(4):259–75.
- LaSalle J. Capítulo 75: Familia Tanaostigmatidae. Em: *Introducción a los Hymenoptera de la Región Neotropical*. em: Fernández F, Sharkey MJ. (eds.). *Sociedad Colombiana de Entomología y Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C.* 2006; pp. 721–725.
- Lersten NR. *Flowering Plant Embryology: with emphasis on economic species*. Blackwell Publishing. U.S.A. 2004; 212 p.
- Lorenzi H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. v.1. São Paulo, Ed. Plantarum. 1998.
- Mayo SJ. A revision of *Philodendron* subgenus *Meconostigma* (Araceae) *Kew Bolletín*. 1991; 46: 601–681.
- Milles PW. Insect Secretions in Plants. *Annu. Rev. Phytopatol.* 1968; 6: 137–164.
- Milliron HE. Taxonomic and biological investigations in the genus *Megastigmus* with particular reference to the taxonomy of the nearctic species (Hymenoptera: Chalcidoidea; Callimomidae). *American Midland Naturalist* 1949; 41: 257–420.
- O'Brien TP, Feder N, McCully ME. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. *Protoplasma*, 1964; 59: 368–373.
- Ostergard H, Hamback P, Ehrlen J. Pre-dispersal seed predation: the role of fruit abortion and selective oviposition. *Ecology*. 2007; 88: 2959–2965
- Pellmyr O. The cost of mutualism: interactions between *Trollius europaeus* and its pollinating parasites. *Oecologia*. 1989; 78: 53–59.
- Pellmyr O. *Yucca*, *Yucca* moths and coevolution: a review. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 2003; 90: 35–55.

- Pereira MJB, dos Anjos N, Picanço M. Ciclo biológico del barrenador de semillas de guanábana (Hymenoptera: Eurytomidae). *Agronomia Trop.* 1997; 47: 507–519.
- Perioto NW. Primeira Ocorrência do gênero *Megastigmus* Dalman, 1820 (Hymenoptera: Torymidae) e primeiro registro da família Megastiminae para o Brasil. *Arq Inst Biol São Paulo.* 1997;64(2):115–6.
- Price PW. Species interactions and the evolution of biodiversity. em: Herrera, CM, Pellmyr O. *Plant-animal interactions: an evolutionary approach.* Backwell. 2002; pp. 3–25.
- Raman A, Schaefer CW, Withers TM. Gall and gall-inducing arthropods: An overview of their biology, ecology, and evolution. Em *Biology, Ecology, and Evolution of Gall-Inducing Arthropods Vol. 1* (eds. Raman, A., Schaefer, C.W. & Withers, T.M. ), USA: Science Publishers. 2005; pp. 1–33.
- Ramos-Ordóñez, MF, Marquez-Guzman J, Del Coro Arizmendi MA. Parthenocarpy and seed predation by insects in *Bursera morelensis*. *Annals of Botany* 2008; 102: 7134–722.
- Scheffer SJ, Grissell EE. Tracing the geographical origin of *Megastigmus transvaalensis* (Hymenoptera: Torymidae): an African wasp feeding on a South American plant in North America. *Mol. Ecol.* 2003; 12: 415–421.
- Shoohoven LM *Insect- Plant Biology.* 2<sup>nd</sup> Edition Oxford University Press. 2005; 421 pp.
- Strauss SY, Zangerl AR. Plant-insect interactions in terrestrial ecosystems. in: Herrera, CM, Pellmyr O. *Plant-animal interactions: an evolutionary approach.* Backwell. 2002; pp. 77–106.
- Thompson JN, Pellmyr O. Mutualism with pollinating seed parasites amid co-pollinators: constraints on specialization. *Ecology.* 1992; 73: 1780–1791
- Truman JW, Riddiford LM. The origins of insect metamorphosis. *Nature.* 1999; 401:447–52.
- Valverde MM, Pimentel MCP, Vieira RC. Response of *Phitocellobium tortum* Martius (Leguminosae) seeds to attack of the phytophagous Braconid *Allorhogas dyspistus* Marsh (Hymenoptera: Braconidae). *J. Hym. Res.* 1998; 7: 274–279.
- Vinson SB, Iwantsch GF. Host regulation by insect parasitoids. *Q. Rev. Biol.* 1980; 55(2):143–65.
- Weis AE, Walton R, Crego CL. Reactive Plant Tissue Sites and the Population Biology of Gall Makers. *Annu. Rev. Entomol.* 1988; 33(1):467–86.